

THESE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE NANCY

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

PAUL BORREDON

PHOSPHORYLCREATINE ET ATP DANS LE COEUR *in situ* DE COBAYE

- VALEURS RESPECTIVES EN NORMOXIE, EN ANOXIE
ET AU COURS D'UNE PERFUSION I.V. DE DIGOXINE.
- RELATIONS AVEC L'APPARITION DU PHENOMENE
DE LESION SUR L'E.C.G.

Soutenue publiquement le **16 MAI 1970** devant la Commission d'examen.

MM. J. GAYET, Professeur

Président

E. CORABOEUF, Professeur

J. DAVRAINVILLE, Chargé d'enseignement

M. LAMARCHE, Professeur

} Examineurs

THESE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE NANCY

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

PAUL BORREDON

PHOSPHORYLCREATINE ET ATP DANS LE COEUR *in situ* DE COBAYE

- VALEURS RESPECTIVES EN NORMOXIE, EN ANOXIE
ET AU COURS D'UNE PERFUSION I.V. DE DIGOXINE.
- RELATIONS AVEC L'APPARITION DU PHENOMENE
DE LESION SUR L'E.C.G.

Soutenue publiquement le

devant la Commission d'examen.

MM. J. GAYET, Professeur

Président

E. CORABOEUF, Professeur

J. DAVRAINVILLE, Chargé d'enseignement

M. LAMARCHE, Professeur

} Examineurs



PERSONNEL FACULTE DES SCIENCES ANNEE SCOLAIRE 1969-1970

DOYEN : M. AUBRY

ASSESSEUR : M. GAY

DOYENS HONORAIRES

M. CORNUBERT

M. ROUBAULT

PROFESSEURS HONORAIRES

M. RAYBAUD

M. LAFFITTE

M. LERAY

M. JOLY

M. LAPORTE

M. EICHBORN

M. CAPELLE

M. GODEMENT

M. DUBREIL

M. SCHWARTZ L.

M. DIEUDONNE

M. LONGCHAMON

M. LETORT

M. DODE

M. GAUTHIER

M. GOUDET

M. OLMER

M. CORNUBERT

M. CHAPELLE

M. GUERIN

M. WAHL

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

M. LIENHART

M. PIERRET

M^{le} MATHIEU

PROFESSEURS

M.	ROUBAULT	Géologie
M.	VEILLET	Biologie Animale
M.	BARRIOL	Chimie Théorique
M.	BIZETTE	Physique
M.	GUILLIEN	Electronique
M.	LEGRAS	Mécanique Rationnelle
M.	BOLFA	Minéralogie
M.	NICLAUSE	Chimie
M.	FAIVRE	Physique Appliquée
M.	AUBRY	Chimie Minérale
M.	COPPENS	Radiogéologie
M.	DUVAL	Chimie
M.	FRUHLING	Physique
M.	HILLY	Géologie
M.	LE GOFF	Génie Chimique
M.	SUHNER	Physique Expérimentale
M.	CHAPON	Chimie Biologique
M.	HEROLD	Chimie Minérale Industrielle
M.	SCHWARTZ B.	Exploitation Minière
M.	MALAPRADE	Chimie
M.	MANGENOT *	Botanique
M.	GAYET	Physiologie
M.	HADNI	Physique
M.	BASTICK *	Chimie
M.	DUCHAUFOUR	Pédologie
M.	GARNIER	Agronomie
M.	NEEL	Chimie Organique Industrielle
M.	BERNARD	Géologie Appliquée
M.	CHAMPIER *	Physique
M.	GAY *	Chimie Biologie

* - Professeur titulaire à titre personnel.

M.	STEPHAN	Zoologie
M.	CONDE *	Zoologie
M.	WERNER *	Botanique
M.	EYMARD	Calcul Différentiel & Intégral
M.	LEVISALLES	Chimie Organique
M.	FELDEN	Physique
M.	GOSSE *	Mécanique Physique
M.	DAVOINE *	Physique (ENSMIN)
M.	HORN	Physique (I ^o Cycle)
M.	ROCCI *	Géologie
M.	DELPUECH	Chimie Physique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mme	BASTICK	Chimie P.C. EPINAL
M.	GUDEFIN	Physique
M.	VUILLAUME	Psychophysiologie
M.	FRENTZ	Biologie Animale
M.	MARI	Chimie (ISIN)
M.	AUROUZE	Géologie
M.	DEVIOT	Physique du Solide
M.	FLECHON	Physique P.C.
Mle	HUET	Mathématiques C.B.G.
M.	VIGNES	Métallurgie
M.	JURAIN	Géologie C.B.G.
M.	BALESSENT	Thermodynamique, Chimie Appliquée (ENSIC)
M.	BLAZY	Minéralogie Appliquée (ENSG)
M.	JANOT	Physique P.C. EPINAL
M.	CACHAN	Entomologie Appliquée (ENSA)
M.	JACQUIN	Pédologie et Chimie Agricoles
M.	MAINARD	Physique M.P.
M.	MARTIN	Chimie P.C.
M.	PAULMIER	Mécanique Expérimentale
M.	PROTAS	Minéralogie

* - Professeur titulaire à titre personnel.

MAITRES DE CONFERENCES

M.	JOZEFOWICZ	Physico-Chimie
M.	RIVAIL	Chimie Appliquée (CUCES)
M.	VILLERMAUX	Génie Chimique
M.	METCHE	Biochimie Appliquée (Brasserie)
M.	PAIR	Mathématiques Appliquées
M.	BAUMANN	Physique I ^o Cycle
M.	DURAND	Physique
M.	GRANGE	Physique (ISIN)
M.	DEPAIX	Probabilités et Statistiques
M.	BAVEREZ	Chimie (ENSIC)
M.	CHAMBON	Exploitation Minière (Mines)
M.	HUSSON	Physique (ENSEM)
M.	WEISSLINGER	Physique
M.	GERL	Physique (ENSEM)
M.	ROQUES	Chimie Minérale
M.	FERRIER	Mathématiques
M.	GILORMINI	Mécanique (ISIN)
M.	DEXHEIMER	Botanique
M.	CASTRO	Chimie Organique

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M.	AMARIGLIO
M.	COEURE
M.	DAVRAINVILLE
M.	GIRARDEAU
M.	HILY
M.	MAURIN
M.	NOVERRAZ
M.	OVAERT
M.	BUYER
M.	WEBER

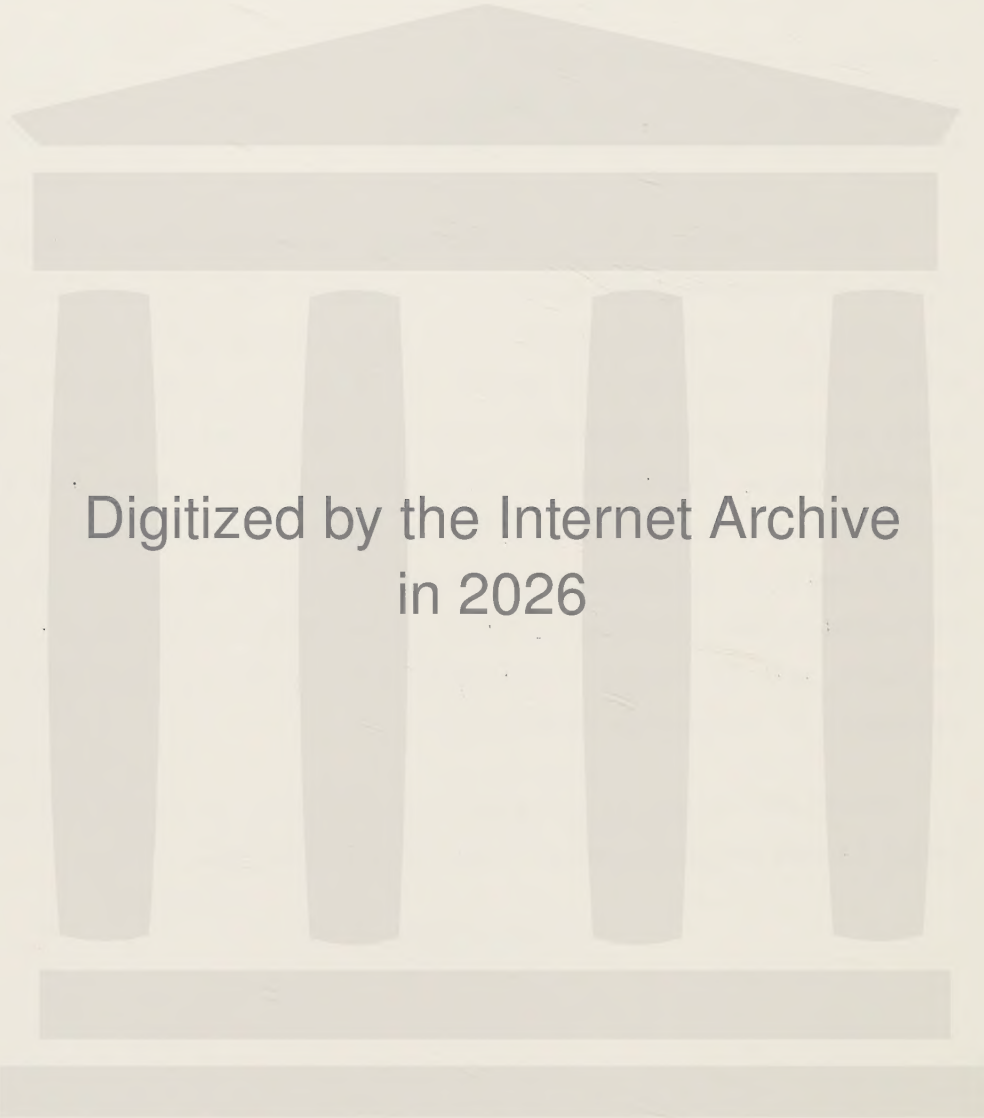
A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur GAYET

Professeur de Physiologie générale
à la Faculté des sciences de NANCY

Lorsque jeune médecin lieutenant récemment affecté dans la région nancéienne je suis venu vous exposer mon désir d'entreprendre une thèse de doctorat d'état es sciences naturelles, comme m'y avait incité mon regretté maître de la faculté des sciences de Lyon, le Professeur CORDIER, vous avez bien voulu m'écouter avec bienveillance. En m'honorant de votre confiance, vous m'avez ensuite guidé tout au long de la réalisation de ce travail en vous efforçant de m'inculquer votre souci constant du soin à apporter dans la réalisation des techniques. C'est qu'en effet la valeur d'un résultat ne tient qu'à la valeur de l'expérience puisse ce modeste travail témoigner de ce que je vous dois.

Veuillez accepter, Monsieur, la dédicace de cette thèse comme l'expression de notre respectueux hommage.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551920_0009

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur CORABOEUF

Professeur de Physiologie comparée
à la Faculté des sciences d'ORSAY

Soumettre un travail à votre jugement c'est constater rapidement que lorsque la jeunesse est un état de l'esprit, que lorsque dans celui-ci s'allient l'esprit de finesse à l'esprit de géométrie, qu'enfin, lorsque le savoir est grand, alors le juge peut être redoutable. C'est pourquoi le très grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse, nous touche profondément comme la marque d'une grande bienveillance à notre égard.

Monsieur DAVRAINVILLE

Chargé d'enseignement de Physiologie générale
à la Faculté des sciences de NANCY

Qui nous a toujours reçu avec beaucoup de gentillesse.
Qui a bien voulu nous faire l'honneur de juger cette thèse.

Monsieur le Professeur LAMARCHE

Professeur de pharmacologie
à la Faculté de médecine de NANCY

Vous nous avez accueilli dans votre laboratoire et vous avez guidé nos premiers pas dans le domaine de la recherche pharmacologique avec une grande indulgence.

Pendant l'élaboration de ce travail aux jours de découragement et de lassitude, en m'honorant de votre amitié vous avez su m'aider à le mener à bien. Qu'il témoigne de notre reconnaissance et de notre respectueux attachement.

A MONSIEUR LE MEDECIN GENERAL DE 2ème CLASSE CANTONI

Directeur du Centre d'Enseignement et de Recherches de Médecine
Aéronautique.

Dès ses prémices vous avez bien voulu manifester de
l'intérêt pour ce travail, vous en avez permis
l'accomplissement.

Veillez accepter, Mon Général, l'hommage de notre
profond respect et de notre gratitude.

A MONSIEUR LE MEDECIN EN CHEF DE 1ère CLASSE DE BRISSON DE LA ROCHE
Maître de Recherches du Service de Santé des Armées
Directeur du Centre de Recherches de Médecine Aéronautique

Respectueux Hommages.

A MONSIEUR LE MEDECIN EN CHEF DE 1ère CLASSE ANGIBOUST
Maître de Recherches du Service de Santé des Armées
Médecin Chef du Laboratoire Central de Biologie Aéronautique

Pour nous qui avons l'honneur de servir sous vos ordres, votre enthousiasme est le plus bel exemple. Que ce travail soit un modeste hommage à la grande bienveillance que vous nous avez toujours manifestée.

A Mademoiselle BESSON

Professeur de pharmacodynamie
à la Faculté de pharmacie de NANCY

qui nous a largement ouvert les portes de son laboratoire chaque fois que celà a été nécessaire en particulier au moment de la mise au point des techniques de dosages.

Au docteur ROYER

Professeur agrégé de pharmacologie
à la Faculté de médecine de NANCY

qui a bien voulu par pure amitié se livrer à un patient et obscur travail de bénédictin pour interpréter à l'aveugle les tracés électrocardiographiques.

Au docteur SWYNGHEDAUW

Chargé de recherches à l'I.N.S.E.R.M.

qui a bien voulu lire le premier jet du manuscrit et nous faire part de ses judicieuses critiques et de ses précieux conseils.

A Madame ROMBACH

Docteur en pharmacie

qui nous a aidé avec tant de compétence et de gentillesse lors de la mise au point du dosage de la phosphorylcréatine.

A Madame BOULANGER et à Mademoiselle MARTIN

dont la collaboration technique efficace et dévouée nous a été particulièrement précieuse.

A TOUS LES MIENS

mes remerciements vont aussi à tous ceux qui ont contribué
à la présentation de ce travail.

SOMMAIRE

	<u>Pages</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>CHAPITRE I - PRELEVEMENT TISSULAIRE</u>	5
- Le matériel physiologique.....	6
- La congélation "in situ".....	8
<u>CHAPITRE II- LES TECHNIQUES DE DOSAGE</u>	10
- Préparation de l'extrait tissulaire.....	10
- Dosage de la phosphorylcréatine.....	12
- Dosage de l'ATP.....	15
- Expression des résultats.....	22
<u>CHAPITRE III- TENEUR DU MYOCARDE NORMOXIQUE EN PC ET EN ATP.</u>	29
- Résultats obtenus sur deux lots d'animaux ventilés avec l'air ambiant.....	29
- Résultats rapportés par différents auteurs..	34
<u>CHAPITRE IV- RESULTATS OBTENUS AU COURS DE L'ANOXIE</u>	38
- Evolution de la teneur du myocarde en $\sim P$ au cours de l'anoxie.....	38
- Evolutions, au cours de l'anoxie, de la teneur du myocarde en PC et de l'E.C.G.....	44

	<u>Pages</u>
<u>CHAPITRE V</u> - RESULTATS OBTENUS SOUS L'EFFET DE LA DIGOXINE ET DE L'ADRENALINE.....	50
- Evolution de la teneur du myocarde en νP au cours d'une perfusion i.v. de digoxine et à la suite d'une injection i.v. d'adrénaline.....	51
- E.C.G. et teneur du myocarde en PC sous l'effet d'une surcharge digitalique aiguë.	54
<u>CHAPITRE VI</u> - EXAMEN DES RESULTATS.....	58
- Intérêt de la méthode de congélation "in situ".....	58
- La teneur du myocarde en νP pendant la phase d'installation d'une anoxie anoxique	59
- La teneur du myocarde en νP pendant la phase d'installation d'une intoxication digitalique.....	63
- Adrénaline et νP - effet de la réserpine..	65
- La liaison entre teneur en PC du myocarde et aspect lésionnel de ST.....	68
<u>CHAPITRE VII</u> - COMMENTAIRES.....	70
- Le concept excitation-couplage-contraction	71
- Potentiels cellulaires et E.C.G.....	74
- Transport ionique actif et νP	76
- Digoxine et mouvement ionique.....	81
- E.C.G. et efficacité mécanique du coeur...	84
- L'importance de la réaction de LOHMANN dans la réponse du coeur de cobaye à une agression.....	87
<u>CONCLUSIONS</u>	93
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	96

INTRODUCTION

La vie est énergie et le myocarde de mammifère, organe aérobie, tire son énergie d'une combustion d'hydrogène en présence d'oxygène. Certes, le catabolisme anaérobie est aussi source d'énergie utilisable par le cœur de mammifère même pour effectuer un travail mécanique (128), mais sa part est négligeable devant celle du catabolisme aérobie (86) : l'énergie se dégage essentiellement dans la cellule myocardique à partir du moment où l'hydrogène, arraché au substrat, entre dans la chaîne respiratoire mitochondriale par l'intermédiaire des nucléotides réduits coenzymes des déshydrogénases, pour venir céder un électron à la chaîne des cytochromes et réduire finalement l'atome d'oxygène (57). Bien que la libération d'énergie par le catabolisme cellulaire (130) puisse être ainsi considérée comme un phénomène ménagé, il n'en demeure pas moins qu'elle s'effectue par bonds successifs qui correspondent aux différences de potentiels d'oxydo-réduction entre les composants de la chaîne respiratoire. A chaque variation d'énergie libre suffisamment importante, une quantité d'énergie est libérée dans la mitochondrie et emmagasinée immédiatement sur une structure moléculaire particulière : "la liaison phosphate riche en énergie" que nous représenterons par le symbole νP qui représente un résidu phosphorylé dont l'énergie libre d'hydrolyse a une valeur élevée. C'est à partir de cette catégorie de phosphates à potentiel énergétique élevé, dont les caractères fonctionnels furent soulignés en 1941 par LIPMANN (103), que la cellule pourra alimenter son activité. Ainsi, à côté d'une production continue d'énergie existent, dans la cellule, des accumulateurs biochimiques susceptibles d'emmagasiner des gradients importants d'énergie et de les restituer à la demande, notamment pour les phénomènes mécaniques de la contraction musculaire.

Jusqu'à la découverte, en 1927, par FISKE et SUBBAROW (53) et par EGGLETON et EGGLETON (44) de la phosphorylcréatine (PC) dans les extraits musculaires, il était admis que l'énergie nécessaire à la contraction musculaire était directement fournie par la dégradation du glycogène en acide lactique, MEYERHOF ayant montré qu'il existe une proportionnalité entre le travail effectué par le muscle squelettique en anaérobiose et la quantité d'acide lactique

produite. En 1930, LUNDGAARD (107) modifie cette conception en montrant qu'un muscle intoxiqué par l'acide monoiodoacétique est capable d'effectuer une importante série de contractions apparemment normales sans former d'acide lactique mais en épuisant sa réserve en PC dont la disparition provoque son passage à l'état rigide. LUNDGAARD en déduit (108) que la PC est la substance qui assure directement l'approvisionnement en énergie nécessaire à la contraction musculaire. Mais, en 1934, LOHMANN (105) montre que si, à un extrait musculaire aqueux dans lequel l'hydrolyse de la PC est très lente, on ajoute les acides adényliques dérivés de l'hydrolyse de l'acide adénosinetriphosphorique (ATP), alors l'hydrolyse de la PC devient extrêmement rapide, aussi rapide que dans le muscle lui-même, ce qui prouve que dans l'extrait l'enzyme responsable de l'hydrolyse de la PC n'est pas dénaturée et que dans le muscle l'hydrolyse de la PC s'inscrit dans une suite de réactions précises (... "die stark exotherm verlaufende Spaltung der Kreatinphosphorsäure im Muskel nicht durch eine spezifische Phosphatase erfolgt, wie bisher allgemein angenommen wurde, sondern dass hier eine enzymatisch bedingte Reaktionsfolge unter Einbeziehung der Adenylpyrophosphorsäure vorliegt"). LOHMANN en déduit que lors de la contraction musculaire l'hydrolyse de l'ATP doit précéder celle de la PC, l'ATP hydrolysé étant reconstitué aux dépens de la PC. D'emblée, il souligne les difficultés d'une démonstration directe "in vivo" de sa théorie, en raison, d'une part, de la rapidité de la réaction de transphosphorylation entre PC et ADP et, d'autre part, de la difficulté d'arrêter instantanément les phénomènes biochimiques contemporains de l'activité mécanique du muscle. Ces difficultés étaient telles qu'en 1951 HILL (70) pouvait encore mettre au défi les biochimistes de prouver expérimentalement la validité de l'hypothèse de LOHMANN.

Il fallut attendre 1962 et l'utilisation conjointe de procédés de congélation instantanée et du 1-fluoro 2,4 dinitrobenzène inhibiteur de l'ATP: créatine phospho-transférase pour que CAIN, DAVIES et Coll. (16 et 17) sur le rectus abdominis de rana pipiens montrent, qu'à la suite d'une contraction, il existe une chute de l'ATP, alors que la PC ne varie pas tandis que s'élèvent les taux d'ADP et d'AMP ; enfin, compte tenu de la réaction myokinase, la consommation d'ATP correspond au travail fourni par le muscle. Ainsi, la validité de l'hypothèse de LOHMANN était démontrée sur le muscle squelettique entier isolé, et ceci essentiellement grâce aux perfectionnements apportés dans les méthodes

de congélation instantanée du tissu musculaire, à la suite notamment des travaux d'ERANKO (48) qui, en 1954, décrivit avec précision les facteurs qui déterminent la rapidité de la congélation tissulaire tandis que MOMMAERTS et SCHILLING (121), WOLLENBERGER et Coll. (191) montraient que la conductivité thermique de la source de froid est le facteur essentiel.

FLECKENSTEIN et Coll. (56) et d'autres auteurs (58) ont montré, sur des coeurs de rats, de chats et de cobayes, que l'ATP et la PC représentaient pratiquement à eux seuls le stock de $\sim$ P du myocarde, compte tenu de la faible teneur de celui-ci en nucléotides riches en énergie autres que l'ATP. L'étude des variations du pool énergétique représenté par la somme $[ATP] + [PC]$ permet donc d'étudier dans le coeur le balancement entre la production d'énergie et son utilisation (139). L'importance de l'hydrolyse de la PC, réaction précoce de la contraction musculaire (122) et de celle de l'ATP qui fournit directement l'énergie de la contraction (17) conduisent à étudier l'effet d'une agression anoxique sur le coeur, en observant l'évolution des concentrations de PC et d'ATP. Ainsi, depuis SCHUMANN (159) qui, en 1939, imposant à des rats un séjour dans l'azote pur, observait, dans le coeur de ces animaux, une chute rapide de la PC et une diminution beaucoup plus lente de l'ATP, de nombreux auteurs se sont attachés à ce type d'étude. Mais, comme le fait remarquer FEINSTEIN (52), le non respect des impératifs d'une bonne congélation "in situ" du myocarde rendent caduques nombre de résultats rapportés. Ainsi, la faiblesse de la teneur du myocarde en PC telle qu'elle est communément admise, comparée à celle du muscle rouge squelettique, peut paraître surprenante. Par ailleurs, WILLIAMSON (185) souligne que l'étude de la teneur en $\sim$ P du myocarde au cours de l'anoxie est le plus souvent effectuée de telle manière que les dosages sont pratiqués sur des prélèvements réalisés au moment où est déjà installé le nouvel état stationnaire correspondant au métabolisme anaérobie. La période de transition entre état aérobie et état anaérobie n'est donc pas explorée, ce qui peut amener à négliger l'importance de la réaction de LOHMANN et à exagérer l'importance de la glycogénolyse ou de la glycolyse anaérobie dans la réaction du myocarde à l'agression anoxique. C'est pourquoi, nous avons essayé de déterminer d'abord les concentrations respectives de PC et d'ATP dans le coeur "in situ" normoxique. Puis,

nous avons essayé d'apprécier, à l'instant précis où l'accepteur d'électron est brutalement supprimé, comment réagit le système d'accumulateurs de la cellule, charnière obligatoire entre la production d'énergie aérobie ou anaérobie et son utilisation. Nous avons cherché à savoir si le mode de réaction de ce système pouvait avoir une portée plus générale et expliquer le mécanisme d'action de certaines drogues ; enfin, était-il possible de définir, par un caractère biochimique, certaines zones anoxiques du myocarde qui sont décrites par des critères électrocardiographiques.

CHAPITRE I

PRELEVEMENT TISSULAIRE

Comme le soulignent CARTIER et Coll. (22), c'est le prélèvement tissulaire qui fera que la détermination des concentrations des divers intermédiaires d'une chaîne métabolique fournira ou non une image significative de l'état dynamique permanent qui règne au sein de la cellule. Quand on sait, par exemple, l'extrême rapidité de la réaction de transphosphorylation catalysée par l'ATP : créatine phospho-transférase (E.C.2.7.3.2.) entre la PC d'une part, et l'ADP d'autre part, puisque l'activité molaire de cette enzyme dans le sens de la synthèse de l'ATP peut atteindre 150 000 moles d'ATP/mole d'enzyme/min. (94), on réalise que la difficulté de la détermination des taux de PC et d'ATP dans le tissu ne réside pas tant dans le dosage proprement dit que dans les conditions du prélèvement tissulaire.

Deux impératifs doivent être respectés au moment du prélèvement :

1- que le tissu soit aussi proche que possible d'un état pouvant être considéré comme normoxique et, qu'en particulier, il n'y ait pas eu d'anoxie tissulaire incontrôlée ;

2- que l'équilibre des réactions enzymatiques cellulaires soit instantanément figé.

Le premier impératif nous a conduit à travailler sur le coeur "in situ" et non pas sur le coeur isolé car les manipulations nécessaires au montage d'un coeur isolé peuvent amener la survenue d'une anoxie tissulaire non contrôlée par l'expérimentateur. Ce risque ne pouvait être admis dans la perspective de l'étude de l'évolution du pool des composés phosphorylés riches en énergie au moment de l'installation d'une anoxie anoxique brutale.

Le respect du deuxième impératif nécessitait la congélation du coeur "in situ", or cet organe globuleux est animé de contractions rythmées et, au sein de la cage thoracique, est entouré par le tissu pulmonaire. Il y a là un ensemble de difficultés importantes quand on connaît les impératifs d'une congélation tissulaire rapide (48):

- faible épaisseur du fragment tissulaire : la vitesse de refroidissement de la partie centrale d'une lame tissulaire placée entre deux blocs réfrigérants étant inversement proportionnelle au carré de son épaisseur (191);
- grande surface d'échange entre le tissu et la source de froid ;
- bonne conductivité thermique entre tissu et source de froid ;
- source de froid importante par rapport à la source de chaleur représentée par l'organe à congeler.

Ainsi, une description précise de la préparation animale que nous avons utilisée s'impose.

1- Le matériel physiologique -

L'animal choisi a été le cobaye dans la perspective d'études pharmacologiques portant notamment sur l'action des digitaliques (179). Le Centre Animalier Universitaire de MIGNALOUX-BEAUVOIR nous a fourni des animaux de race HARTLEY, adultes, mâles dont la date de naissance était connue à 3 jours près. Il était important, en effet, de n'utiliser que des animaux adultes et jeunes pour ne pas s'exposer aux variations de taux de PC dues à l'âge (25), (93), (144), (190).

Le cobaye est anesthésié par injection intrapéritonéale d'éthyluréthane (1,25 g/Kg), immobilisé sur le dos sur une platine, trachéotomisé et mis en respiration assistée (Beatmungspumpen-Applarat 1906 BRAUN). Des catheters sont éventuellement mis en place respectivement dans une veine jugulaire externe et dans une artère carotide. Les deux nerfs pneumogastriques sont isolés sur fils au niveau du cou. Des électrodes aiguilles sont insérées sous la peau des 4 membres et permettent de recueillir les dérivations périphériques de l'électrocardiogramme (E.C.G.), soit à l'aide d'un appareil Sanborn Visette, soit d'un

appareil Sanborn 350-3000. L'incision médiane de trachéotomie est prolongée jusqu'à l'appendice xyphoïde, et les couches musculaires thoraciques sont désinsérées du sternum. Les insertions des muscles des 1er et 2ème espaces intercostaux sont effondrées le long de l'arc antérieur de la 2ème côte et le long du sternum. Les deuxième côtes, au niveau de la courbure de l'arc antérieur, et le sternum, au niveau de l'insertion du 3ème arc costal, sont sectionnés sur sonde cannelée. Le fragment antérieur du sternum sectionné est ramené vers l'avant avec une pince, ses insertions musculaires profondes sont dilacérées et il est sectionné d'un coup de ciseaux juste en arrière de l'insertion du 1er arc costal. Un volet sternal est ainsi découpé avec une hémorragie très minime, et il permet, avec les cobayes choisis pesant de 550 à 800 g., d'exposer la base du coeur.

Insistons sur la modicité de l'hémorragie puisqu'il n'est nul besoin d'utiliser les pinces hémostatiques à condition de dilacérer les insertions musculaires au passe fil et non de les sectionner.

La préparation est laissée au repos pendant une dizaine de minutes, puis le péricarde est incisé et le coeur basculé sur son pédicule, la pointe dirigée vers le haut et en arrière venant s'appuyer sur l'extrémité postérieure du fragment sternal laissé en place. Un fil, fixé latéralement aux deux côtés de la platine, déprime en une légère cupule le fragment sternal sur lequel repose l'apex cardiaque. Dans les 15 secondes qui suivent le basculement du coeur, les nerfs pneumogastriques sont sectionnés. La préparation est régulièrement arrosée avec du sérum physiologique à 38° C. Dans ces conditions, comme le montrent les figures III, il est possible de recueillir un tracé électrocardiographique convenable en D I ou D II. Certes, il y a là manipulation du coeur objectivée par l'apparition d'un courant de lésion (50), le plus souvent fugace, sur l'E.C.G. La persistance d'un tel courant de lésion au-delà de la première minute suivant le basculement entraîne l'élimination de la préparation. Nous attribuons cette persistance du courant de lésion, observée dans certains cas, à une compression de la coronaire postérieure sous le propre poids de l'organe reposant sur le fragment sternal laissé en place.

2- La congélation "in situ" -

La méthode la plus appropriée pour fixer, en un instant donné, l'état des concentrations des substrats du métabolisme cellulaire au sein d'un organe vivant, est d'amener, le plus rapidement possible, le tissu à des températures très basses. L'immersion d'un fragment tissulaire dans un gaz liquide contenu dans un Vase DEWAR est une méthode qui expose à de nombreux déboires du fait de la très mauvaise conductivité thermique de ces liquides. De plus, l'utilisation de certains liquides tels que l'azote liquide au voisinage de leur température d'ébullition expose à l'effet LEYDENFROST, c'est-à-dire que le liquide entre en ébullition au contact des surfaces du fragment tissulaire et qu'ainsi une couche de gaz isolante entoure le tissu au sein du liquide, ce qui ralentit encore les échanges thermiques. C'est pourquoi, ROMMERTS et SCHILLING (121) ont proposé l'utilisation de liquides réfrigérants se trouvant à une température éloignée de leur température d'ébullition tels que l'isopentane. L'hélium liquide, en vertu de sa capacité supraconductrice, pourrait représenter le milieu de refroidissement idéal ; malheureusement, il n'est pas encore accessible, de manière peu onéreuse, aux chercheurs en biologie et, de toute façon, la projection d'un prélèvement myocardique dans l'hélium liquide ne résoudrait pas les impératifs de rapport volume/surface qui doivent être respectés pour que la congélation au centre du prélèvement soit suffisamment rapide du fait de la mauvaise conductibilité thermique des tissus animaux (ERANKO, 48). Enfin, quel que soit le "coup de main" de l'expérimentateur, l'intervalle de temps qui sépare l'excision du fragment d'organe de sa projection dans le liquide réfrigérant, doit être pris en compte encore qu'un montage expérimental convenable, dans le cas de muscles isolés, puisse réduire cet intervalle de temps à quelques fractions de secondes (109).

En ce qui nous concerne, la méthode de la pince congelante décrite par WOLLENBERGER, RISTAU et SCHOFFA (191) et dont la qualité a été encore soulignée récemment (105), nous a paru particulièrement adaptée à la solution de notre problème. L'écrasement de l'oeux ventriculaire entre deux blocs d'aluminium préalablement portés à la température de l'azote liquide permet, en effet, de transformer un fragment d'organe globuleux en un disque mince de moins de 1 mm d'épaisseur.

étalé en galette sur une grande surface d'échange avec un métal ayant une excellente conductivité thermique. De plus, la chaleur spécifique relativement importante de l'aluminium permet de garder, pour les dimensions des blocs de métal qui constituent les mors de la pince, des dimensions relativement modestes, ce qui permet une bonne maniabilité de l'instrument. La réalisation de celui-ci est particulièrement bon marché : deux parallélépipèdes d'aluminium, larges de 28 mm, longs de 50 mm et hauts de 10 mm, sont fixés sur les montants en fer d'une forte pince dont les manches sont garnis de poignées en bois. Les bords des surfaces d'affrontement des mors d'aluminium sont crénelés pour éviter le dérapage du coeur lors de la manoeuvre de compression.

Dans les cinq minutes suivant le basculement du coeur, la pointe ventriculaire est puissamment écrasée entre les mors de la pince congelante préalablement plongés pendant 1 minute dans un vase DEWAR rempli d'azote liquide. Compte tenu de la masse des blocs d'aluminium utilisés, le coeur est congelé en totalité ; il est alors arraché de son pédicule. Seul est conservé le disque tissulaire qui a été écrasé entre les mors de la pince ; ce disque, rapidement projeté dans l'azote liquide, est conservé à -30° C pendant douze à vingt quatre heures. L'épaisseur du disque est d'environ 1 mm, ce qui le place dans la gamme 0, 4 mm à 1, 5 mm pour laquelle WOLLENBERGER et Coll.(190) ont trouvé que les valeurs minimales d'orthophosphate et maximales de PC, mesurées dans des prélèvements à la pince congelante effectués sur des coeurs de chiens, de lapins et de cobayes, étaient indépendantes de l'épaisseur du prélèvement.

Un avantage de cette méthode est qu'elle nous permet d'enregistrer sur l'E.C.G. le moment précis où s'est effectué le prélèvement, ce qui est important pour l'étude des relations électro-biochimiques (9 et 10). Parmi les inconvénients de ce procédé de prélèvement tels que les a décrits POURREL (141) dans son essai d'adaptation de notre technique aux prélèvements de muscle squelettique humain, nous ne retiendrons, dans le cas d'un travail expérimental portant sur un animal de laboratoire sacrifié, que la nécessité pour l'expérimentateur d'un certain entraînement au maniement de la pince.

Enfin, dans le cadre d'une recherche sur le myocarde, la compression entre deux blocs réfrigérants permet d'obtenir une bonne expression du sang contenu dans les cavités cardiaques (191).

CHAPITRE II

LES TECHNIQUES DE DOSAGE

I- PREPARATION DE L'EXTRAIT TISSULAIRE -

a)- Pesée -

Sur le plateau d'une balance uniplateau Sartorius 2603, un petit Bécher est placé et refroidi par l'azote liquide. Dès que le Bécher garde un poids stable, le disque tissulaire y est projeté, pesé rapidement et replongé immédiatement dans l'azote liquide où il était conservé depuis sa sortie du cryostat. Au cours de la pesée, il faut éviter une décongélation partielle du tissu qui conduirait à une hydrolyse rapide de la PC puisque les enzymes ne sont pas encore détruites, pour cela il suffit de manipuler le disque tissulaire avec des pincettes préalablement refroidies dans l'azote liquide et de ne le laisser séjourner que quelques secondes dans le Bécher refroidi. Avec la balance utilisée, le séjour du disque tissulaire sur le plateau est toujours inférieur à 15 secondes. Un deuxième impératif de la pesée est d'éviter la condensation d'eau sur le muscle, ce qui conduirait à surestimer son poids. La rapidité de la pesée permet de penser que ce facteur joue peu : pour certains prélèvements pesant de 500 à 600 mg, trois pesées successives ont été effectuées ; le chiffre de la 3ème pesée n'a jamais excédé de plus de 3 mg le chiffre de la 1ère pesée. Il y a donc là une cause d'erreur négligeable à condition que la pesée soit effectuée de manière attentive et, qu'en particulier, le refroidissement du Bécher par l'azote liquide soit ménagé, de manière à ce que ses parois ne condensent pas trop la vapeur d'eau. Toutes les pesées se rapportant aux chiffres donnés dans cet ouvrage ont été effectuées par nous-même .

b)- Extraction -

La grande labilité de la Phosphorylcréatine en milieu acide qui a été à l'origine de sa découverte en 1927 par FISKE et SUBBAROW (53) et par EGGLETON et EGGLETON (44) est à la base du procédé de dosage que nous avons choisi. Le choix d'une technique enzymatique pour le dosage de l'ATP imposait l'utilisation, comme agent défécant, de l'acide perchlorique du fait de la facilité avec laquelle l'ion perchlorate est éliminé par neutralisation de l'extrait tissulaire acide (22). Pour réaliser une rapide dénaturation des enzymes et une bonne extraction des composés acido-solubles, il est nécessaire de faire agir l'acide sur le prélèvement tissulaire, préalablement soigneusement réduit en poudre. Après sa pesée, le disque tissulaire est pulvérisé, en congélateur, dans un mortier en porcelaine sous addition constante d'azote liquide. Quand une fine poudre tissulaire a été obtenue, de l'acide perchlorique 0,5 N glacé (1,3 ml pour 100 mg de tissu, les prélèvements pèsent en moyenne 600 mg) est progressivement ajouté dans le mortier ; poudre tissulaire et acide sont ainsi malaxés pendant une dizaine de minutes, puis transvasés dans le tube à centrifuger. La centrifugation est menée à 0° C pendant 10 min. à 16 000 G (centrifugeuse Sorwall RC 2-B).

Nous n'avons pas effectué la correction correspondant à l'augmentation de la teneur en eau du tissu par condensation au cours de l'extraction. WOLLENBERGER et Coll. (190) ont trouvé, pour une procédure analogue, qu'il fallait tenir compte d'un facteur de correction de 1 % par rapport au poids frais déterminé avant la pulvérisation.

II- DOSAGE DE LA PHOSPHORYLCREATINE (PC) -

Principe : Une molécule de PC en s'hydrolysant libère une molécule de phosphate. Si les phosphates inorganiques présents dans le tissu sont dosés avant toute possibilité d'hydrolyse de la PC, puis s'ils sont dosés après hydrolyse de celle-ci, de la différence des deux déterminations, on obtient le taux de PC dans le tissu (54).

Une partie du liquide limpide surnageant est immédiatement prélevée après l'arrêt de la centrifugation et diluée 5 fois dans l'acide perchlorique 0,5 N glacé. C'est dans cet extrait perchlorique dilué qu'est immédiatement dosée la PC en déterminant les taux de phosphate inorganique, respectivement avant et après hydrolyse acide pendant 30 mn à 22° C, en présence de molybdate de sodium. Le dosage est effectué selon le procédé B de la méthode de WAHLER et WOLLENBERGER (175). Un complexe phosphomolybdique en milieu acide est d'abord réalisé selon la réaction :



Puis, le complexe phosphomolybdique est extrait du milieu perchlorique par l'acétate d'isopropyle et, enfin, réduit par le chlorure stanneux en excès. L'intensité colorimétrique développée sur la longueur d'onde de 710 nm est constante entre 15 et 90 mn après l'addition du chlorure d'étain, et la loi de Beer-Lambert est satisfaite pour des concentrations en phosphate allant de 0,001 à 0,3 micromoles par ml.

a)- Réactifs -

- Acétate d'isopropyle, Fluka ;
- $\text{KH}_2 \text{ PO}_4$, Merck ;
- Méthylcellosolve, Merck ;
- Molybdate de Na, Merck ;
- SnCl_2 , Merck.

b)- Détermination du phosphate inorganique présent avant hydrolyse -

Une prise d'essai de 1 ml de l'extrait perchlorique dilué, conservé à 0° C, est immédiatement prélevée, après la dilution, avec une pipette préalablement stockée dans le bac congélateur. Cette prise d'essai est déposée dans un tube d'un volume utile de 8,5 ml et contenant 3 ml d'une solution de molybdate de Na 0,005 M et 4 ml d'acétate d'isopropyle. Ce tube est alors agité vigoureusement pendant 30 s., puis laissé au repos 30 s. pour laisser les phases isopropyle et aqueuse se séparer ; 3 ml de la phase isopropyle sont alors prélevés et mélangés dans un tube à essai avec 1,5 ml de méthylcellosolve destiné à ralentir l'évaporation. Le tube à essai bouché est stocké.

c)- Détermination du phosphate inorganique présent après hydrolyse -

Une prise d'essai de 1 ml de l'extrait perchlorique dilué est déposée dans un tube qui n'a reçu que 3 ml de la solution de molybdate de Na 0,005 M. L'hydrolyse s'y poursuivra 30 mn à la température du laboratoire avant l'extraction par 4 ml d'acétate d'isopropyle.

d)- La même technique que pour la détermination des phosphates avant hydrolyse est appliquée à des prises d'essai de 1 ml d'acide perchlorique 0,5 N (blanc) et de solutions étalons d'orthophosphate, contenant respectivement 0,1 et 0,2 micromoles de phosphate par ml et préparées extemporanément à partir d'une solution mère 0,01 M de KH_2PO_4 dans l'acide perchlorique 0,5 N.

Pour chaque détermination, trois dosages sont effectués.

A la fin de la manipulation, 200 mg de SnCl_2 finement pulvérisés sont ajoutés dans chaque tube à essai contenant la phase isopropylique et les tubes, après agitation, sont laissés au repos 20 mn à la température ambiante avant le début des lectures d'absorption. Celles-ci sont effectuées sur la longueur d'onde de 710 nm avec un spectrophotomètre Jobin et Yvon, le zéro étant réglé sur une cuve remplie de méthylcellosolve. Pour chaque dosage, est construite la droite exprimant les densités optiques en fonction des concentrations en phosphate des prises d'essai de 1 ml des solutions étalons.

REMARQUES -

a)- Hydrolyse de la PC pendant la phase d'extraction -

Des solutions, dans l'acide perchlorique 0,5 N, de phosphorylcréatine disodique cristallisée (Sigma) ont été réalisées. Les concentrations de ces solutions étaient respectivement de 0,15 et de 0,30 micromoles/ml. La PC était mise en solution dans l'acide déjà amené à la température de 0° C et les solutions étaient maintenues à une température comprise entre -2° C et + 2° C. Dans ces conditions, pour des prises d'essai effectuées à 45 minutes d'intervalle, une hydrolyse de la PC n'a pu être mise en évidence. FURCHGOTT et de GUBAREFF (60), LOWRY et Coll. (106) ont également rapporté que l'hydrolyse de la PC en solution acide maintenue à 0° C est insignifiante après un délai de une heure. Ceci nous permet de penser que l'hydrolyse de la PC qui survient pendant la phase d'extraction est négligeable, cette phase ayant une durée inférieure à 30 minutes.

b)- Extraction du complexe phosphomolybdique par l'acétate d'isopropyle -

Au début de notre expérimentation, suivant strictement la technique de WAHLER et WOLLENBERGER (175), nous avions opéré à basse température, mais, dans ces conditions, l'extraction du complexe phosphomolybdique par l'acétate d'isopropyle s'est révélée moins bonne qu'à la température ambiante et conduisait à une sous-évaluation du taux de phosphate inorganique présent avant hydrolyse de la phosphorylcréatine.

c)- Détermination sur des solutions de PC commerciales -

Des dosages ont été effectués sur des solutions dans l'acide perchlorique 0,5 N de phosphorylcréatine cristallisée (Sigma). Deux séries de 6 déterminations, pratiquées à 6 mois d'intervalle sur deux échantillons commerciaux différents, ont donné pratiquement les mêmes résultats : pour des solutions contenant respectivement 0,15 et 0,30 micromoles de PC par prise d'essai (PE) de 1 ml, la récupération a été comprise entre 90 et 94 %. Nos résultats sont donnés sans tenir compte du facteur de correction correspondant.

d)- Intérêt de la détermination de la PC par le dosage du phosphate inorganique (Pi) -

Le choix d'une telle méthode, de préférence au dosage de la créatine libre, n'entraîne pas la nécessité d'une correction due à la formation de créatinine (183). On sait, en effet, qu'indépendamment de toute activation enzymatique, en solution aqueuse la créatinine est formée spontanément beaucoup plus rapidement à partir de la PC qu'à partir de la créatine (11).

e)- Hydrolyse de l'ATP -

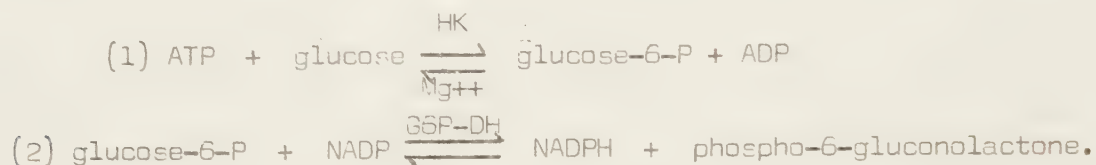
FURCHGOTT & de GUBAREFF (60) ont montré que l'ATP ne s'hydrolyse pratiquement pas en solution acide pendant 25 mn, à la température ambiante (24 à 27° C). Il n'est donc pas nécessaire de faire une correction pour la quantité de Pi libérée par l'ATP au cours de la phase d'hydrolyse en présence de molybdate.

III- DOSAGE DE L'ACIDE ADENOSINE TRIPHOSPHORIQUE (ATP) -

Principe : Une molécule d'ATP, en présence des substrats et des enzymes convenables, détermine la réduction d'une molécule de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP). L'apparition de chaque molécule de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) est suivie directement par la mesure des variations de densité optique du milieu de réaction, sur la longueur d'onde de 340 nm, seule la forme réduite du NADP ayant, en effet, une bande d'absorption centrée sur cette longueur d'onde.

La fraction du liquide surnageant après l'arrêt de la centrifugation qui n'a pas été utilisée pour le dosage de la PC est amenée à pH 9 par addition goutte à goutte d'une solution de carbonate de potassium 5 M. On laisse reposer le tout dans un tube conique pendant environ 4 heures à + 4° C. C'est dans cette fraction de l'extrait perchlorique surnageant au-dessus du dépôt de perchlorate de K qu'est dosé l'ATP selon la méthode de LAMPRECHT et

TRAUTSCHOLD (99). La phosphorylation du glucose par l'ATP, réaction (1) catalysée par l'hexokinase (HK) (E.C.2.7.1.1.) en présence d'ions Mg^{++} , est couplée avec la réduction du NADP par le glucose-6-phosphate, réaction (2) catalysée par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) (E.C.1.1.1.49)



L'appareillage utilisé est un spectrophotomètre Jobin et Yvon dont le porte-cuve est équipé d'un dispositif alimenté par un ultra-thermostat (NBS Haake) qui permet d'y maintenir une température constante de 30° C. Les cuves utilisées sont des cuves en verre d'un volume utile de 3,5 ml avec un trajet lumineux de 1 cm. Elles permettent l'utilisation du porte-cuve à 4 unités.

a)- Réactifs -

- $MgCl_2$, Merck ;
- Glucose, Merck ;
- G6P-DH, suspension à 1 mg/ml Boehringer ;
- Hexokinase from Yeast Type III, Sigma ;
- NADP, Boehringer.

b)- Préparations des solutions -

Pour chaque dosage, les solutions suivantes sont préparées :

- tampon triéthanolamine : 0,465 g de chlorhydrate de triéthanolamine est dissous dans 20 ml d'eau bidistillée, puis 1,1 ml de NaOH 1 N est ajouté ; on complète à 50 ml avec de l'eau bidistillée ;
- solution aqueuse de NADP : 3 mg sont dissous dans 0,35 ml d'eau bidistillée ;
- solution aqueuse de chlorure de magnésium à 5 % ;
- suspension de G6P-DH : 0,10 ml de G6P-DH, suspension à 1 mg/ml diluée avec 0,15 ml d'eau bidistillée ;

- solution de glucose : 200 mg de glucose, eau bidistillée, QSP 20 ml ;
- suspension d'hexokinase : hexokinase 3 mg en suspension dans 4 ml d'eau bidistillée.

c)- Conduite du dosage -

La cuve N° 1 reçoit uniquement de l'eau bidistillée (réglage du zéro).

Les cuves N° 2, 3 et 4 reçoivent respectivement 3,10, 2,90 et 2,80 ml de tampon triéthanolamine à pH 7,4, puis, 0,06 ml de la solution de NADP, puis 0,10 ml de la solution de $MgCl_2$.

Les cuves N° 3 et 4 reçoivent ensuite respectivement 0,20 et 0,30 ml d'extrait perchlorique alcalinisé. Puis, 0,04 ml de la suspension de glucose-6-P déshydrogénase est ajouté aux cuves 2, 3 et 4 et, dès ce moment, un chronomètre est mis en route. Les cuves sont alors coiffées de leur couvercle, agitées soigneusement, puis portées dans le porte-cuve où, pendant 20 mn, on laissera s'établir l'équilibre des températures.

Au temps noté t_{2g} , la cuve témoin (cuve N° 2) reçoit 0,10 ml de la solution de glucose. On observe alors un lent accroissement linéaire de l'extinction en fonction du temps dans la cuve témoin, et le même phénomène sera observé lorsqu'on ajoutera le glucose dans les cuves 3 et 4. Dès que le nombre de points expérimentaux recueillis est suffisant pour construire la droite exprimant l'accroissement de l'extinction en fonction du temps dans la cuve témoin, c'est-à-dire au bout de 25 mn environ, celle-ci reçoit 0,05 ml de la suspension d'hexokinase ; les mesures sont alors poursuivies pendant 20 mn environ, la variation de l'extinction en fonction du temps restant linéaire (fig. II₁).

La procédure est la même pour les cuves 3 et 4. Mais l'adjonction d'hexokinase est faite assez rapidement après celle du glucose (5 à 10 mn). Dès que l'hexokinase a été ajoutée, on observe l'évolution caractéristique d'une réaction enzymatique où le nombre de molécules de substrat apparu est mesuré en

fonction du temps. Dès que la variation de l'extinction dans les cuves 3 et 4 redevient linéaire et de pente comparable à celle du témoin, c'est-à-dire au bout d'une dizaine de minutes, on peut admettre que la réaction est terminée et que tout l'ATP a été utilisé.

d)- Calcul des résultats -

Le fait observé, que seule l'addition du glucose dans les cuves entraîne une très faible réduction du NADP par simple déplacement d'équilibre, permet de prendre comme temps d'origine, pour chaque cuve, le moment précis où le glucose est ajouté dans celle-ci.

- soit Y^3_L la densité optique de la cuve 3 au temps t^3_L (lecture);
- soit Y^3_g la densité optique de la cuve 3 au temps t^3_g : la variation de densité optique $\Delta DO = Y^3_L - Y^3_g$ correspond à l'apparition de NADPH dans la cuve, chaque molécule de NADPH apparue correspondant à une molécule d'ATP disparue. Mais le fait qu'il existe une très légère réduction du NADP dans la cuve témoin dès que le glucose en excès est ajouté, et le fait qu'une addition de 0,05 ml de suspension d'HK ait été effectuée entre les temps t^3_g et t^3_L nécessitent une correction.

Si $t^3_L - t^3_g = m$, l'augmentation de densité optique $\delta' DO$ mesurée pour la cuve témoin entre les temps $t^2_g + m$ et t^2_g correspond au facteur de correction $d\hat{O}$ à la lente réduction du NADP sous l'influence du déplacement d'équilibre de la réaction.

Si $t^3_L - t^{3HK} = n$, l'augmentation de densité optique $\delta'' DO$, mesurée pour la cuve témoin au temps $t^{2HK} + n$, entre la courbe extrapolée avant addition d'HK et la courbe réelle, permet d'apprécier le facteur de correction $d\hat{O}$ à l'addition de 0,05 ml de suspension d'héxokinase.

$$\text{Si } \delta DO = \delta' DO + \delta'' DO$$

la différence $\Delta E = \Delta DO - \delta DO$ nous donne alors la variation d'extinction correspondant au NADPH apparue du seul fait de la présence d'ATP dans la cuve N° 3.

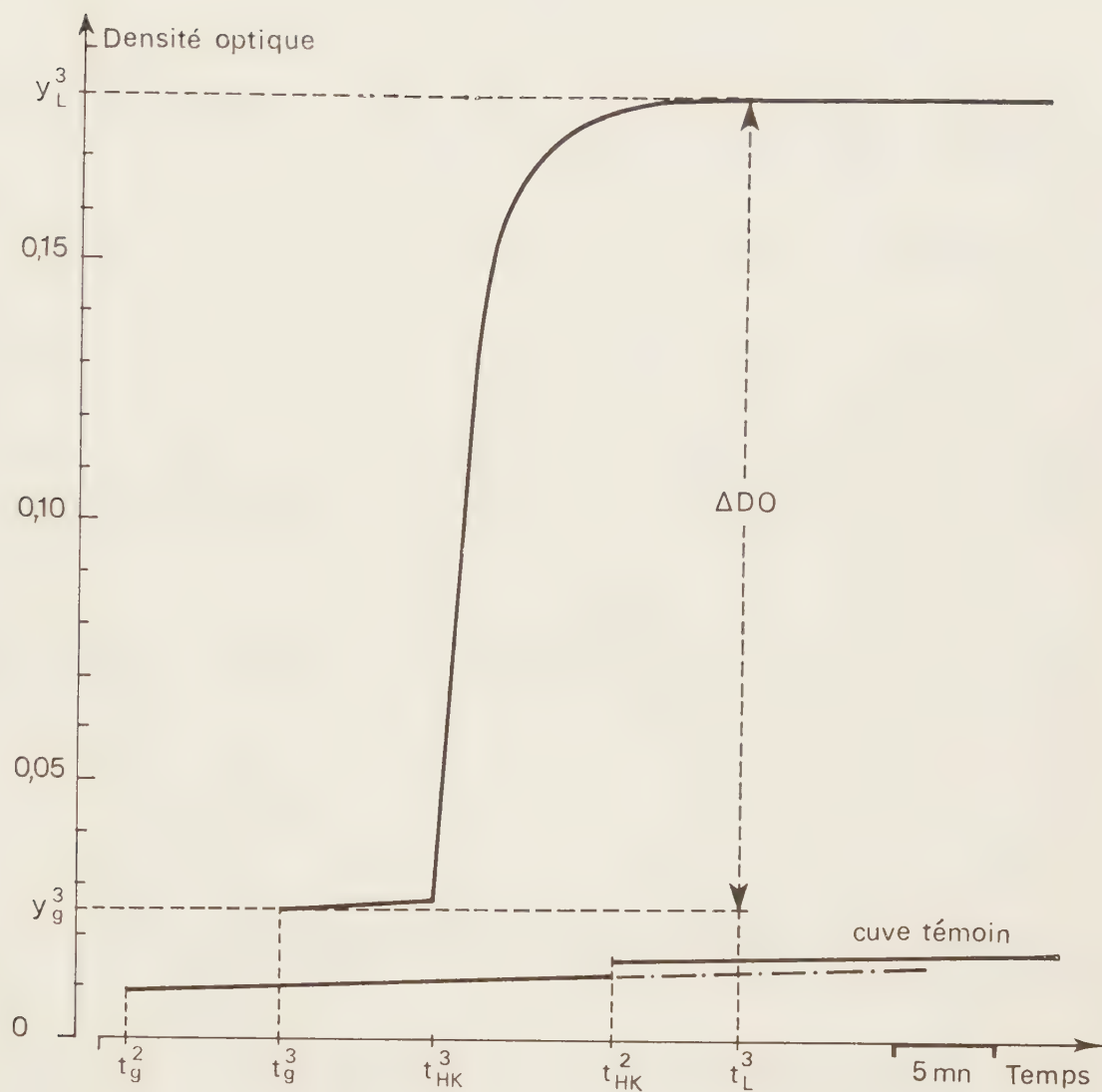


Figure II. 1 - Dosage enzymatique de l'ATP. Evolution de l'extinction en fonction du temps.

Selon la loi de Beer-Lambert, nous pouvons écrire :

$$\Delta E = \epsilon \cdot \Delta C \cdot d$$

où ϵ est le coefficient d'extinction moléculaire du NADPH que nous prenons égal à $6,22 \cdot 10^6 \text{ cm}^2 \cdot \text{Mole}^{-1}$ (HORECKER et KORNBERG, (77),) ;

- ΔC est l'augmentation de concentration du NADPH en moles par ml dans la cuve ;

- d le trajet optique en cm ($d = 1 \text{ cm}$ dans les cuves utilisées).

Si nous appelons x le nombre de molécules de NADPH apparues dans la cuve 3 ou dans la cuve 4 du seul fait de la présence d'ATP, nous avons, si x est exprimé en micromoles par ml :

$$\Delta E = 6,22 \cdot 10^6 \cdot 10^{-6} \cdot x \cdot 1$$

soit $x = \frac{\Delta E}{6,22} = \text{nombre de micromoles d'ATP/ml dans la cuve.}$

Remarques -

a)- Importance de la correction apportée dans le calcul des résultats -

Il faut souligner qu'avec la procédure utilisée δDO reste toujours petit par rapport à ΔDO puisque pour tous les dosages rapportés dans cette thèse, nous avons $\frac{\delta DO}{\Delta DO} < \frac{4}{100}$. Cependant, un autre intérêt de cette correction c'est qu'elle impose, pour chaque dosage, l'étude de l'évolution des réactions dans les cuves respectivement avant et après l'adjonction du glucose et de l'héxokinase, ce qui permet de vérifier le cours normal des réactions dans la cuve témoin et dans les cuves qui ont reçu le liquide surnageant contenant l'ATP. Ceci est important quand on sait le nombre de facteurs susceptibles de perturber une réaction enzymatique.

b)- Déplacement d'équilibre de la réaction sous l'influence du glucose -

Si on considère les réactions (1) et (2), compte tenu de la

reversibilité des réactions enzymatiques, on doit réaliser au départ dans les cuves un déséquilibre des concentrations en substrats, de manière à ce que la réaction ait tendance à évoluer vers l'apparition du NADPH. Comme on ne connaît pas à priori l'importance de la quantité d'ATP amenée par le liquide surnageant, il est nécessaire d'apporter du glucose et du NADP en excès.

Avec les concentrations utilisées, la quantité de NADP apportée est bien en excès : le dosage ayant été réalisé jusqu'au stade t_{NL} , c'est-à-dire après l'adjonction d'héxokinase au moment où l'évolution de la DO dans la cuve redevient comparable à celle du témoin, une nouvelle PE de liquide surnageant est alors rajoutée dans la cuve. Il est aisément vérifié que la nouvelle augmentation de densité optique correspond à un apport double d'ATP dans la cuve. Cette vérification n'a pas été effectuée systématiquement pour tous les dosages mais pour une série de concentrations d'ATP dans les cuves allant de 0,030 à 0,060 micromoles/ml. Or, dans notre série de dosages, nous n'avons jamais réalisé dans la cuve par l'apport du liquide surnageant des concentrations en ATP supérieures à 0,045 micromoles/ml.

D'ailleurs, la solution aqueuse de NADP (3 mg dissous dans 0,35 ml d'eau bidistillée) apporte pour 0,06 ml déposées dans la cuve sensiblement 0,50 mg de NADP, soit 0,6 micromoles de NADP, soit, pour un volume final de 3,45 ml dans la cuve, 0,17 micromoles de NADP/ml. Comme la conversion de 0,1 micromoles de NADP/ml dans une cuve ayant un trajet lumineux de 1 cm entraîne une variation de densité optique :

$$\Delta DO = 6,22 \cdot 10^6 \cdot 10^{-7} \cdot 1 = 0,62$$

Il est aisément vérifié, par la simple lecture des résultats, que la quantité de NADP présente dans les milieux de réaction est toujours en excès et n'est jamais un facteur limitant de la réaction.

L'évolution linéaire de la réaction dans la cuve témoin dès l'adjonction de glucose ($t_{2\gamma}$) témoigne du déplacement d'équilibre de la réaction dû à l'excès de glucose. En effet :

- dans les cuves ayant reçu du liquide surnageant, il y a une très faible quantité de glucose, apportée par le liquide surnageant lui-même,

ainsi qu'en témoigne l'évolution de la réaction quand l'HK est ajoutée avant le glucose : la réaction évolue d'abord normalement, mais le plateau n'atteint pas la valeur correspondant à la quantité d'ATP réellement présente dans le milieu. Or, dans ces cuves, la DO reste stable aussi longtemps que 0,1 ml de la solution de glucose à 1 % n'est pas ajouté.

- dans la cuve témoin, l'apport d'HK avant l'apport de glucose n'entraîne pas l'évolution de la réaction.

- dans la cuve témoin, l'évolution de la réaction est déclenchée par l'apport de glucose, et plus la concentration en glucose est élevée dans la cuve, plus la pente de la droite exprimant l'augmentation de DO en fonction du temps est élevée. Nous avons finalement choisi de travailler avec les concentrations indiquées qui assurent une très lente réduction du NADP dans la cuve témoin en fonction du temps, ce qui nécessite une correction, faible d'ailleurs, mais ce qui permet d'espérer que dans les cas où la quantité d'ATP apportée par le liquide surnageant est faible, tout l'ATP est néanmoins éliminé du milieu de réaction.

c)- Déterminations sur des préparations d'ATP commerciales -

Elles ont été faites sur des solutions de sel disodique d'ATP cristallisé de muscle de cheval (Sigma). Chaque prise d'essai apportait respectivement 0,08 et 0,10 micromoles d'ATP dans la cuve. En admettant une décomposition lente du sel disodique stocké au réfrigérateur, de l'ordre de 1% par mois (6), la récupération a été voisine de 99 %.

d)- Choix de la longueur d'onde de 340 nm -

Sur cette longueur d'onde, le coefficient d'extinction moléculaire du NADP est stable en fonction de la température, ce qui n'est pas le cas à 366 nm (76). Le choix de cette dernière longueur d'onde entraîne une correction modique (22), mais crée des impératifs de surveillance étroite de la température de l'enceinte thermostatée d'un dosage à l'autre, ce qui n'est pas le cas quand la longueur d'onde de travail est de 340 nm.

IV- EXPRESSION DES RESULTATS -

- Soit P le poids du disque tissulaire exprimé en mg ;
- Soit u l'équivalent en volume de ce poids (par exemple, si
 $P = 600 \text{ mg}$, $u = 0,60 \text{ ml}$;
- Soit U le volume en ml d'acide perchlorique 0,5 N mis dans le mortier : nous avons $U + u = U'$, le volume total acide + tissu mis dans le mortier, exprimé en ml.

1- Cas de la phosphorylcréatine -

Soit x le nombre de micromoles de PC par prise d'essai de 1 ml.

Si V est le volume total en ml d'extrait perchlorique dilué ;
 si v est le volume en ml de liquide surnageant prélevé au-dessus du culot de centrifugation, nous avons :

$$\frac{x \cdot VU' \cdot 100}{vP} = \text{quantité de PC en micromoles pour 100 mg de tissu frais.}$$

2- Cas de l'ATP -

Si x est le nombre de micromoles d'ATP/ml dans la cuve, le volume total dans la cuve au moment des lectures étant de 3,45 ml, on a immédiatement le nombre de micromoles d'ATP dans la cuve égal à $x \cdot 3,45$.

Soit v' le volume de la prise d'essai mis dans la cuve (0,20 ou 0,30 ml) ;

Soit V le volume total de liquide surnageant alcalinisé ;

Soit v la quantité de liquide surnageant prélevée au-dessus du culot de centrifugation, nous avons :

$$\frac{x \cdot 3,45 \cdot VU' \cdot 100}{v'vP} = \text{quantité d'ATP en micromoles pour 100 mg de tissu frais.}$$

3- Validité de l'expression des résultats par rapport au poids frais -

SCHEUER & STEZOSKI (157), dans leurs expériences sur le coeur de rat isolé, expriment leurs résultats en fonction du poids sec du sédiment de centrifugation obtenu, comme nous, à partir d'un extrait tissulaire perchlorique. Ces auteurs rappellent, en effet, que JENNINGS & Coll. (80) ont montré que le myocarde de chien soumis à une occlusion coronaire temporaire de 40 minutes présente un enrichissement de son contenu en eau, surtout net dans les 20 minutes suivant le rétablissement de la circulation coronaire. Nous proposant d'étudier l'évolution des taux de PC et d'ATP pendant les 60 premières secondes d'une anoxie anoxique, il nous fallait vérifier si, dès les premières secondes de l'anoxie, l'augmentation de la teneur en eau du myocarde se manifeste, car une diminution constatée du taux d'un métabolite pourrait correspondre simplement à un gain en eau du tissu. Le culot de centrifugation est placé dans un bécher taré et le tout est porté à l'étuve à 80° C. Les pesées sont effectuées à partir du 3ème jour de mise à l'étuve pendant 3 jours consécutifs jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Les rapports poids frais/poids sec ont été étudiés (Cf. tableaux II) sur des prélèvements provenant d'animaux ventilés avec l'air ambiant (tableaux II a & II b) et sur des prélèvements provenant d'animaux soumis à une anoxie anoxique par ventilation avec de l'azote pur (tableaux II c & II d). Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les animaux normoxiques (témoins 2ème lot, tableau II b) et les animaux soumis à une anoxie inférieure à 60 secondes (tableau II c). En effet, si on compare les deux variances estimées des deux séries par leur rapport, on a :

$$F_{2,3} = \frac{\sum x_2^2 - \frac{(\sum x_2)^2}{n_2}}{n_2 - 1} \cdot \frac{n_3 - 1}{\sum x_3^2 - \frac{(\sum x_3)^2}{n_3}} = 1,78$$

Pour les nombres de degrés de liberté $n_2 - 1 = 13$ et $n_3 - 1 = 26$, les tables de Snédécór indiquent, pour le seuil de signification correspondant à la sécurité 95 %, une valeur de 2,12 ; on peut donc conclure que la différence entre les deux variances n'est pas significative. Si on compare alors les deux moyennes en calculant la variance estimée commune des deux séries S^2 , on a :

$$S^2 = \frac{\sum (x_2 - \bar{x}_2)^2 + \sum (x_3 - \bar{x}_3)^2}{n_2 + n_3 - 2} = 0,116$$

En testant par t, il vient :

$$t = 0,267.$$

Pour un nombre de degré de liberté de $n_2 + n_3 = 39$, la table de Student donne un $t = 2,02$ au seuil 95 %, donc la différence entre les 2 moyennes n'est pas significative. Ainsi, pendant les 60 premières secondes de l'anoxie, la teneur en eau du myocarde dans nos conditions expérimentales ne varie pas.

Les quelques résultats rapportés dans le tableau II d et se rapportant à des prélèvements effectués sur des animaux soumis à une anoxie supérieure à 60 secondes semblent montrer un accroissement du rapport poids frais/ poids sec. Mais il faut remarquer qu'après 60 secondes de ventilation avec de l'azote pur, le coeur est dilaté, mou et gonflé de sang et que, dans ces conditions, malgré l'expression réalisée par le mode de congélation à la pince, il est vraisemblable que le prélèvement est artificiellement enrichi en sang par rapport à un prélèvement effectué sur un animal normoxique et qu'ainsi l'élévation du rapport poids frais/poids sec n'est pas uniquement la traduction d'un enrichissement en eau du tissu.

ANIMAUX		P R E L E V E M E N T		Poids frais
Poids (g)	Age (sem.)	Poids frais (mg)	Poids sec (mg)	Poids sec
500	11	494	non déterminé	
490	12	148	non déterminé	
550	9	298, 3	non déterminé	
610	14	461	non déterminé	
475	13	244	60, 3	4, 05
580	15	262	78, 6	3, 33
565	10	372, 6	81, 6	4, 57
745	18	498	108, 4	4, 59
565	11	502	106, 2	4, 73
695	18	584, 4	130, 4	4, 48
590	15	324	76, 2	4, 25
590	15	413, 4	91, 8	4, 50
550	11	559, 8	131, 2	4, 27
850	18	777, 8	191, 2	4, 07
620	13	451	105, 4	4, 28
SOMME.....				47, 12
MOYENNE ARITHMETIQUE.....				4, 28

TABLEAU II a -- Rapports poids frais/poids sec de prélèvements provenant d'animaux ventilés avec l'air ambiant à l'aide d'une pompe à respiration au débit insuffisant (I^o lot de Témoins du chapitre III).

ANIMAUX		P R E L E V E M E N T		Poids frais	X_2^2
Poids (g)	Age (sem.)	Poids frais (mg)	Poids sec (mg)	Poids sec X_2	
680	13	419, 5	85	4, 94	24, 40
730	19	629	146, 2	4, 30	18, 49
660	14	638, 5	149, 5	4, 27	18, 23
690	13	421	110	3, 33	14, 57
620	12	564, 5	123, 2	4, 58	20, 98
660	12	972	220, 6	4, 41	19, 45
740	18	526	114	4, 61	21, 25
620	16	381	non déterminé		
580	14	598	147	4, 07	16, 56
600	10	646	145, 5	4, 44	19, 71
670	15	614	165, 8	3, 70	13, 69
590	20	515	101, 6	5, 07	25, 70
540	13	327	non déterminé		
600	11	438, 8	108	4, 06	16, 48
700	19	252, 5	66, 5	3, 80	14, 44
800	21	334	78	4, 28	18, 32
			SOMMES.....	60, 36	262, 37
			MOYENNE ARITHMETIQUE	4, 31	

TABLEAU II b - Rapports poids frais/poids sec de prélèvements provenant d'animaux normoxiques ventilés avec la pompe BRAUN (2° lot de Témoins du chapitre III).

Durée : anoxie (sec.)	ANIMAUX		P R E L E V E M E N T		Poids frais:	X_3^2
	Poids (g)	Age (sem.)	Poids frais: (mg)	Poids sec (mg)	Poids sec X_3	
3	560	11	503	121, 4	4, 14	17, 14
5	630	11	653	159, 5	4, 09	16, 73
8	600	11	544, 5	136, 5	3, 99	15, 92
9	520	16	785	183, 5	4, 28	18, 32
10	610	11	643, 5	161	4, 00	16, 00
10	600	17	505, 5	117	4, 32	18, 66
13	700	15	606	157	3, 86	14, 90
15	730	15	324	78	4, 15	17, 22
15	700	14	668, 5	149	4, 49	20, 16
18	720	14	512, 5	118, 5	4, 32	18, 66
21	660	13	665	152	4, 38	19, 18
25	600	11	616, 5	134, 8	4, 57	20, 88
27	650	14	871, 5	207, 5	4, 20	17, 64
28	900	25	784	167, 4	4, 68	21, 90
29	660	13	723, 5	145	4, 99	24, 90
33	690	15	545	124	4, 40	19, 36
36	780	19	407	86, 5	4, 71	22, 18
36	510	10	400, 5	97, 4	4, 11	16, 89
39	540	10	464	113, 5	4, 09	16, 73
40	600	15	442	103	4, 29	18, 40
41	645	15	590	140	4, 21	17, 72
43	660	16	392	94, 3	4, 16	17, 31
43	600	11	796	186	4, 28	18, 32
47	600	10	558	133, 5	4, 18	17, 47
49	600	11	240	68	3, 53	12, 46
56	630	13	877	199, 3	4, 40	19, 36
56	700	15	427, 3	88, 2	4, 84	23, 43
			SOMMES.....		115, 66	497, 84
			MOYENNE ARITHMETIQUE.....		4, 28	

TABLEAU II c - Rapports poids frais/poids sec de prélèvements provenant d'animaux soumis, par ventilation avec de l'azote pur, à une anoxie d'une durée inférieure à 60 secondes.

Durée anoxie (sec.)	ANIMAUX		P R E L E V E M E N T		Poids frais
	Poids (g)	Age (sem.)	Poids frais (mg)	Poids sec (mg)	Poids sec
62	750	15	645, 5	135	4, 78
63	740	18	203	39, 2	5, 18
66	790	17	428, 4	81, 6	5, 25
70	640	19	428, 4	88, 8	4, 82
73	640	13	1 034	194, 4	5, 32
76	660	16	328, 4	60, 6	5, 42
79	710	15	841, 2	160	5, 26
85	630	19	402, 6	94, 6	4, 26
91	600	18	757	147, 8	5, 12
108	615	15	506	119	4, 25
120	850	21	452, 4	78, 8	5, 74
				SOMME.....	55, 40
				MOYENNE ARITHMETIQUE...	5, 04

TABLERAU II d - Rapports poids frais/poids sec de prélèvements provenant d'animaux soumis, par ventilation avec de l'azote pur, à une anoxie d'une durée supérieure à 60 secondes.

C H A P I T R E III

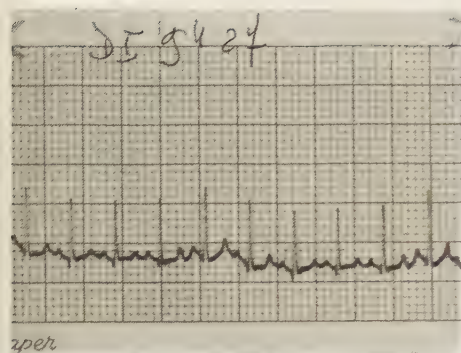
TENEUR DU MYOCARDE NORMOXIQUE EN PC ET EN ATP

La détermination de la teneur du myocarde en Phosphorylcréatine (PC) a d'abord été effectuée sur un premier lot de cobayes ventilés avec l'air ambiant à l'aide d'une pompe à respiration construite au laboratoire. Le débit de cette pompe était certainement insuffisant comme en témoignent les tracés électrocardiographiques de ces animaux qui présentent tous, au moment du prélèvement, des modifications lésionnelles du segment ST (figures III 1). Néanmoins, les résultats des dosages qui sont collationnés dans le tableau III 1, comparés avec ceux de la littérature (tableaux III 3), paraissent satisfaisants ; la qualité relative de ces premiers résultats peut être vraisemblablement imputée à une bonne technique de congélation "in situ".

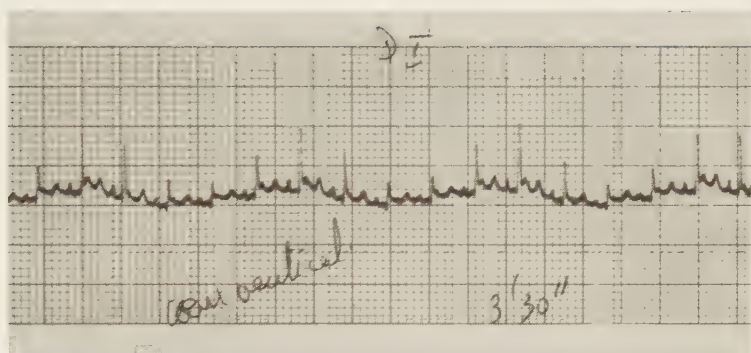
La teneur du myocarde en PC et en ATP a ensuite été déterminée sur un deuxième lot de cobayes ventilés avec la pompe BRAUN. Les résultats des dosages sont rapportés dans le tableau III 2. Si les tracés électrocardiographiques de ces animaux, recueillis au moment du prélèvement, sont comparés avec ceux du premier lot, on constate qu'ils en diffèrent essentiellement par l'aspect du segment ST qui ne présente plus de modifications lésionnelles (figures III 2 et III 3). Certes, comparé à l'enregistrement précédant la manœuvre de basculement du coeur sur son pédicule, le tracé ne peut plus être considéré comme strictement normal, ainsi l'onde T devient fréquemment négative, l'axe de QRS varie plus ou moins en fonction de la ventilation qui modifie la position du coeur (figure 3 b) ou il peut s'inverser (figure 3 a), mais l'aspect lésionnel n'existe plus.

La différence des taux de PC entre les deux séries de dosages correspondant respectivement aux tableaux III 1 et III 2 est hautement significative : moyennes observées en μM pour 100 mg de poids frais, 1er lot $0,887 \pm 0,096$, 2ème lot $1,225 \pm 0,086$, $|t| = 9,97$ pour 27 degrés de liberté (ddl), $p < 0,001$. Si on considère les résultats exprimés par rapport au poids sec du culot de centrifugation, il en est de même : moyennes observées en μM pour 100 mg de poids sec, 1er lot $3,758 \pm 0,51$, 2ème lot $5,255 \pm 0,572$, $|t| = 6,59$ pour 21 ddl, $p < 0,001$.

Pour ce qui est de la teneur en ATP du myocarde, le tableau III 1 ne comporte que trois valeurs, néanmoins ces trois valeurs paraissent comparables à celles relevées dans le tableau III 2. Ainsi, chez les cobayes largement ventilés, la teneur du myocarde en PC apparaît nettement plus élevée que chez les animaux hypoventilés au point d'en présenter des stigmates lésionnels sur l'E.C.G. Paradoxalement, les taux d'ATP des animaux hypoventilés paraissent largement conservés. Les expériences en anoxie vont nous permettre de préciser ces notions.

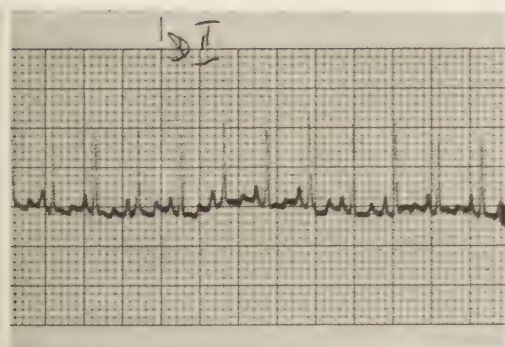


DI Avant basculement.

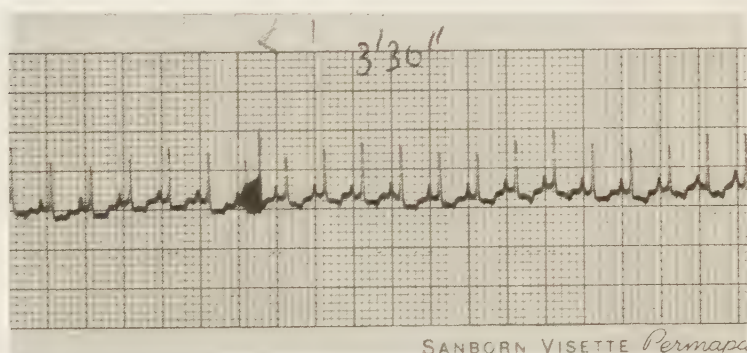


DI Après basculement
Au moment du prélèvement.

Figure 1 a = Cobaye pesant 550 g âgé de 11 semaines.
Exemple de susdéalage.



DII Avant basculement.



DII Après basculement
Au moment du prélèvement.

Figure 1 b = Cobaye pesant 565 g âgé de 11 semaines.
Exemple de sous décalage.

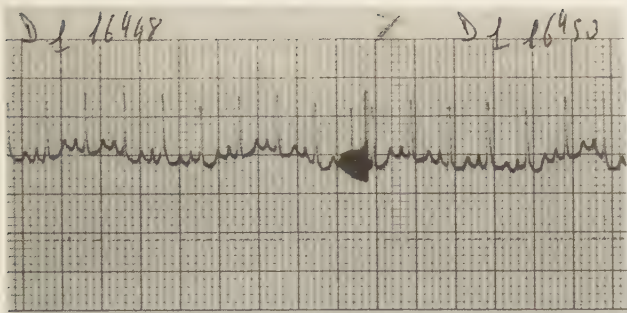
Figures III. 1 - Enregistrements E.C.G. (25 mm/s) concernant des cobayes dont les taux de PC et d'ATP sont rapportés dans le tableau III. 1.

ANIMAUX		P C	A T P
Poids (g)	Age (sem.)	en μM pour 100 mg de poids frais	en μM pour 100 mg de poids sec
500	11	0,97	
490	12	0,94	
550	9	0,86	
610	14	0,86	
475	13	0,87	3,52
580	15	0,99	3,30
565	10	0,96	4,39
745	18	0,93	4,27
565	11	0,87	4,12
695	18	0,94	4,21
590	15	0,69	2,93
590	15	0,70	3,15
550	11	0,79	3,37
850	18	0,985	4,01
620	13	0,95	4,07
SOMMES.....		13,305	41,34
MOYENNES.....		0,887	3,758
E CARTS TYPES...		0,096	0,51

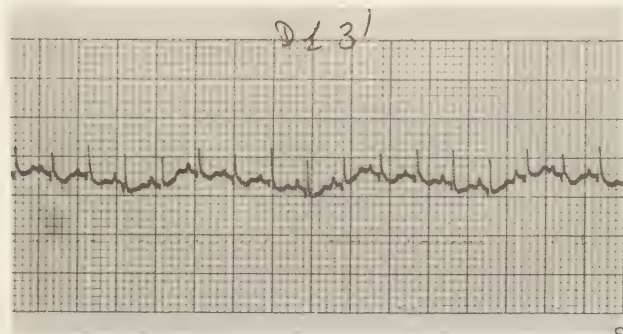
TABLEAU III₁ - Taux de PC et d'ATP dans le myocarde d'animaux ventilés avec l'air ambiant à l'aide d'une pompe à respiration au débit insuffisant (témoins Ier lot).

ANIMAUX		P C		A T P	
Poids (g)	Age (sem.)	en μ M pour 100 mg de poids frais	en μ M pour 100 mg de poids sec	en μ M pour 100 mg de poids frais	en μ M pour 100 mg de poids sec
680	13	1, 18	5, 83	0, 42	2, 075
730	19	1, 30	5, 59	0, 51	2, 19
660	14	1, 19	5, 08	0, 405	1, 73
690	13	1, 255	4, 81	0, 40	1, 53
620	12	1, 43	6, 55	0, 42	1, 925
660	12	non dosée		0, 44	1, 94
740	18	1, 16	5, 37	0, 43	1, 98
620	16	1, 07		0, 45	
580	14	1, 22	4, 97	0, 52	2, 115
600	10	1, 16	5, 15	0, 53	2, 355
670	15	1, 225	4, 53	0, 485	1, 795
590	20	non dosée		0, 46	2, 33
540	13	1, 21		non dosé	
600	11	1, 32	5, 36	0, 485	1, 97
700	19	1, 18	4, 48	0, 51	1, 94
800	21	1, 25	5, 35	0, 475	2, 03
SOMMES.....		17, 150	63, 07	6, 940	27, 905
MOYENNES.....		1, 225	5, 255	0, 463	1, 995
ECARTS TYPES.....		0, 086	0, 572	0, 043	0, 222

TABLEAU III₂ - Taux de PC et d'ATP dans le myocarde d'animaux ventilés avec l'air ambiant à l'aide d'une pompe à respiration au débit suffisant (témoins 2ème lot).

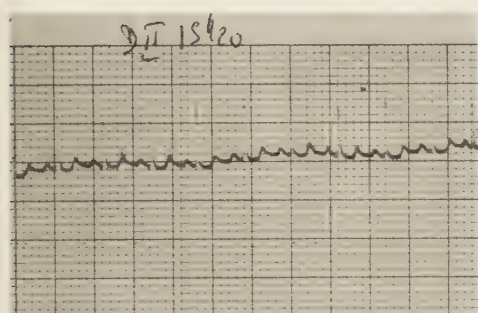


DI Avant basculement.

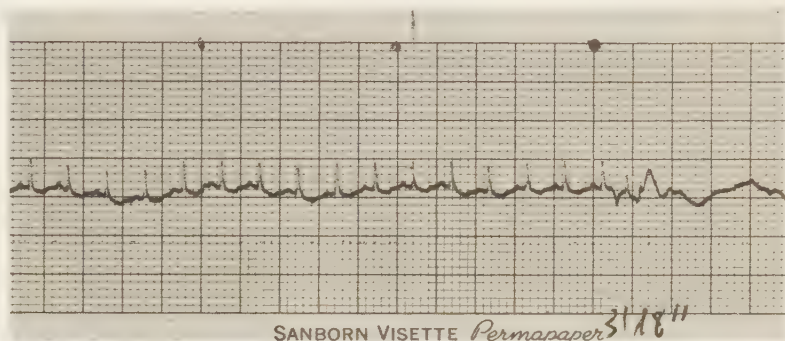


DI Au moment du prélèvement

Figure 2a = Cobaye pesant 620 g âgé de 16 semaines.

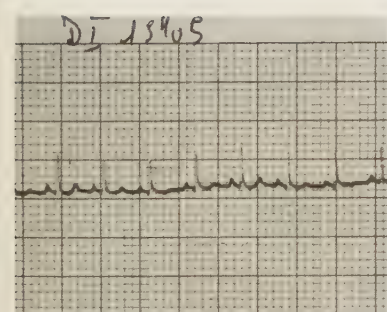


DII Avant basculement

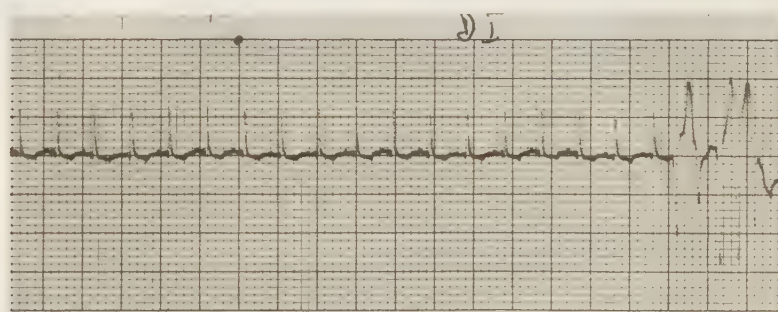


DII Au moment du prélèvement.

Figure 2b = Cobaye pesant 600 g âgé de 11 semaines.



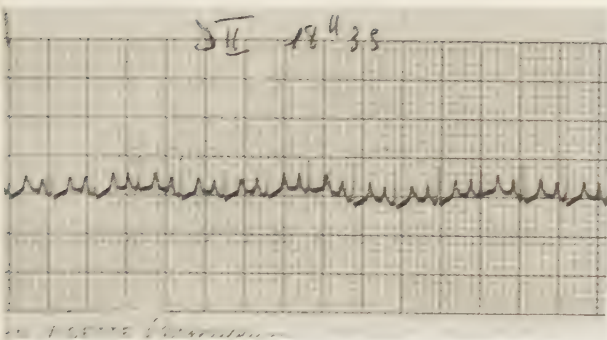
DI Avant basculement.



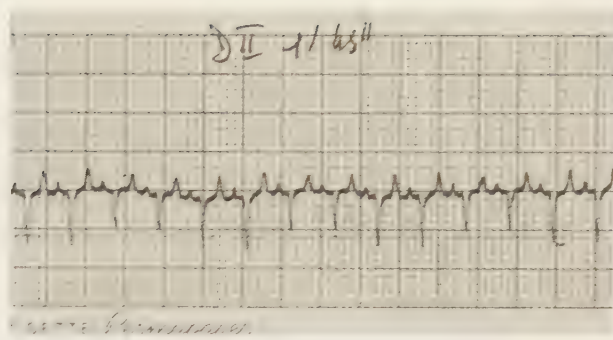
DI Au moment du prélèvement.

Figure 2c = Cobaye pesant 800 g âgé de 21 semaines.

Figures III.2 - Enregistrements E.C.G. (25mm/s) concernant des cobayes dont les taux de PC et d'ATP sont rapportés dans le tableau III.2.

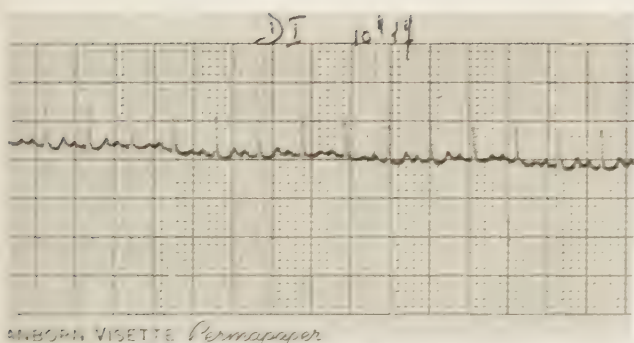


DII Avant basculement.

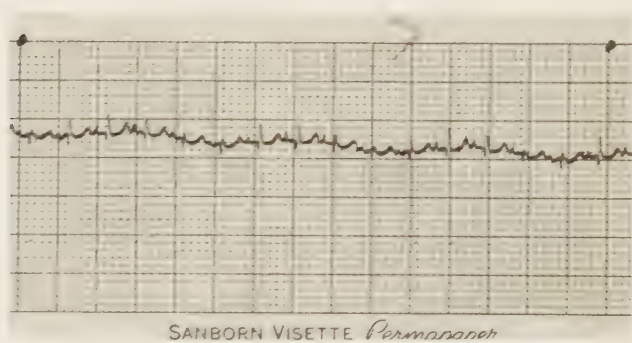


DII Après basculement
Au moment du prélèvement.

Figure 3 a = Cobaye pesant 600 g âgé de 10 semaines.
(PC = $1,16 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais.
ATP = $0,53 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais.)



DI Avant basculement.



DI Après basculement
Au moment du prélèvement.

Figure 3 b = Cobaye pesant 660 g âgé de 14 semaines.
(PC = $1,19 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais.
ATP = $0,405 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais.)

Figures III. 3 - Enregistrements E.C.G. (25mm/s) concernant des cobayes dont les taux de PC et d'ATP sont rapportés dans le tableau III. 2.

TABLEAUX III₃

TENEURS DU MYOCARDE EN PC ET EN ATP RAPPORTEES PAR DIFFERENTS AUTEURS

1- Tableau III₃ (a) - Coeurs isolés perfusés

(Les concentrations en PC et en ATP sont exprimées en micromoles par gramme de poids sec ou frais).

ANIMAL	PC	ATP	POIDS	REFERENCES
Chien	10, 0	3, 6	Frais	BENSON & Coll., 1961 (4)
+Chien		1, 81	Frais	EKESTROM & Coll., 1965 (45)
+Chien	9, 2	5, 7	Frais	LAMPRECHT, 1967 (98)
++Cobaye	9, 87	4, 1	Frais	HOCHREIN & DORING, 1960 (76)
Lapin		4, 10	Frais	RICHMAN & WIBORNY, 1964 (149)
Lapin	5, 83	3, 57	Frais	KAKO & ITO, 1967 (83)
Rat		16, 7	Sec	REGEN & Coll., 1964 (145)
Rat		23, 1	Sec	CHALLONER & STEINBERG, 1966, (26)
Rat	39, 3	24, 0	Sec	WILLIAMSON, 1966 (185)
Rat	28, 2	18, 65	Sec	OLSON, 1967 (131)
++Rat	5, 85	4, 29	Frais	MINELLI & CASELLA, 1967 (118)
Rat	23, 9	23, 0	Sec	SCHEUER & STEZOSKI, 1968 (157)
Rat	24, 5	22, 6	Sec	SCHEUER & STEZOSKI, 1969 (158)

+ Machine coeur poumon.

++Préparation coeur poumon.

TABLEAU III₃

2- Tableau III₃ (b) - Coeurs "in situ"

(Les concentrations en PC et en ATP sont exprimées en micromoles par gramme de poids sec ou frais).

ANIMAL	PC	ATP	POIDS	REFERENCES
Chat	5, 2	3, 39	Frais	FLECKENSTEIN & Coll., 1959 (56)
Chat	7, 22	5, 13	Frais	POOL & Coll., 1967 (139)
Chien	12, 8		Frais	WOLLENBERGER & Coll., 1959/60 (190)
Chien	7, 60	4, 90	Frais	KLARWEIN & Coll., 1962 (91)
Chien	22	24, 7	Sec	FOX & Coll., 1966 (58)
Chien	12, 9	4, 60	Frais	CHIDSEY & Coll., 1966 (28)
Chien	8, 8	6, 7	Frais	MOORE & COTTEN, 1966 (123)
Chien	12, 2	4, 60	Frais	POOL & Coll., 1966 (137)
Chien	12, 2	6, 66	Frais	COVEL & Coll., 1967 (35)
Chien	7, 99	5, 80	Frais	BRAASCH & Coll., 1968 (12)
Chien	11, 6	5, 62	Frais	BOERTH & Coll., 1969 (8)
Chien		5, 84	Frais	BUSCH & GERCKEN, 1969 (15)
Chien	6, 23	8, 26	Frais	NAYLER & Coll., 1969 (127)
Cobaye	10, 9		Frais	WOLLENBERGER & Coll., 1959/60 (190)
Cobaye	7, 2	3, 75	Frais	THORN, 1961, (171)
Cobaye	8, 38	5, 59	Frais	FEINSTEIN, 1962 (52)
Cobaye	6, 84	3, 26	Frais	BENDA & Coll., 1966 (3)
Cobaye	8, 3	4, 6	Frais	FLECKENSTEIN & Coll., 1967 (55)
Lapin	8, 2		Frais	WOLLENBERGER & Coll., 1959/60 (190)
Lapin	5, 26	4, 12	Frais	MICHEL & Coll., 1961 (117)
Lapin	7, 11	4, 04	Frais	IMAI & Coll., 1964 (79)
Lapin	5, 09	4, 64	Frais	BERGHOFF, 1966 (5)
Lapin	3, 38	3, 15	Frais	SWINGHEDAUW & Coll., 1967 (165) et 1968 (167)
Lapin	7, 43	4, 04	Frais	THORN & Coll., 1968 (172)
Lapin		4, 12	Frais	BUSCH & GERCKEN, 1969 (15)
Rat	6, 8	4, 12	Frais	FLECKENSTEIN & Coll., 1959 (56)
Rat	2, 3		Frais	EDMAN & Coll., 1963 (43)
Rat	4, 69	4, 16	Frais	KAKO, 1965 (82)
Rat	16, 3	19, 3	Sec	BROEKHUYSEN & Coll., 1967 (14)
Rat	5, 25	5, 85	Frais	SWYNGHEDAUW & Coll., 1967 (16)

REMARQUES -

1- Conditions d'alimentation des animaux -

Les animaux sont nourris avec des aliments pour animaux de laboratoire (suraliment VILGRAIN), cette alimentation étant complétée par un apport frais (foin, choux, carottes). Le schéma du déroulement des expériences est le suivant : le 1er jour, un prélèvement le matin et un l'après-midi, le lendemain matin dosage de la PC et l'après-midi dosage de l'ATP. Ainsi, les animaux sont choisis dans les cages sans être à jeun, KAKO (82) n'ayant pas observé de différence significative entre les teneurs en PC et ATP de rats nourris ad libitum ou à jeun depuis 48 heures.

2- Hyperventilation des animaux -

Les paramètres de ventilation, pour un cobaye pesant 600 g. et ventilé avec la pompe BRAUN, étaient les suivants : volume affiché sur la pompe : 1,1 ml ; fréquence : 68 par minute. Dans ces conditions, il est certain que les animaux étaient hyperventilés comme en témoignent la chute de la pression artérielle carotidienne et l'augmentation du pH du sang artériel observées dès la mise en route de la respiration artificielle.

Les déterminations du pH sanguin, réalisées avec un pH mètre Radiometer type 27, ont été effectuées dans le laboratoire de physiologie du Professeur BOUVEROT à la Faculté de Médecine de NANCY. Elles ont porté sur un lot de trois cobayes préparés comme nous l'avons décrit chapitre I. Le sang était prélevé dans une artère carotide respectivement avant la mise en route de la respiration assistée (pompe BRAUN) et de dix en dix minutes après la mise en route de celle-ci pendant une durée de 40 minutes ; avec le plan expérimental suivi, les prélèvements tissulaires sont en effet pratiqués entre 30 et 40 minutes après la mise en oeuvre de la ventilation assistée. Dans ces conditions, pour des valeurs de pH comprises entre 7,375 et 7,40 avant le début de la ventilation artificielle, nous avons obtenu des valeurs comprises entre 7,5 et 7,585 pour les déterminations effectuées entre 30 et 40 minutes après la mise

en oeuvre de la pompe BRAUN. Les valeurs systoliques et diastoliques de la pression artérielle carotidienne au même moment sont abaissées, mais la différentielle reste du même ordre de grandeur chez un cobaye anesthésié avec les mêmes doses d'éthyluréthane et simplement trachéotomisé. La réactivité de la préparation reste parfaite puisque l'asphyxie obtenue par pincement de la trachée ou l'anoxie anoxique réalisée par ventilation avec de l'azote pur, déterminent une augmentation considérable de la pression artérielle. L'hypotension générale hypocapnique de l'animal ne nous paraît pas avoir perturbé son irrigation coronarienne puisque, dans ces conditions, nous avons observé, dans le myocarde, une teneur en PC très élevée. Or, le niveau de la phosphorylcréatine tissulaire est considéré actuellement comme le meilleur témoin de l'intégrité fonctionnelle du muscle (MEDESAN 113).

La chute de la pression artérielle, en entraînant une diminution du travail cardiaque, risque d'avoir une influence sur la teneur en PC et en ATP du myocarde. HOCHREIN et DÖRING (73) ont montré, en effet, sur des préparations coeur poumon de cobayes, qu'une surcharge en travail détermine dans le myocarde une chute, d'abord de la teneur en PC, puis de la teneur en ATP. Mais MINELLI et CASELLA (118), reprenant plus récemment ces expériences sur des préparations coeur poumon de rats, n'ont pas observé de variations statistiquement significatives dans les teneurs en PC et en ATP du myocarde pour des variations de travail du coeur restant dans les limites physiologiques : à l'intérieur de celles-ci, les processus de synthèse équilibrent la consommation de νP par les phénomènes mécaniques de la contraction. Plus récemment encore, BOERTH et Coll. (8), ayant observé chez le chien au cours d'une surcharge du travail cardiaque obtenue en augmentant simultanément le volume ventriculaire et le rythme de contraction, une très légère baisse de la teneur en PC et une conservation de la teneur en ATP du ventricule gauche, soulignent que même une grande augmentation du travail cardiaque n'entraîne qu'une très faible variation des teneurs du myocarde en νP .

3- Contrôle électrocardiographique des animaux -

Puisque l'électrocardiographie a pu être proposée pour mettre en évidence un déséquilibre passager entre les besoins accrus du myocarde en oxygène et un apport coronarien insuffisant chez l'homme exposé à un effort

physique (RICHARD & Coll. 148), nous avons pensé que l'E.C.G., enregistré tout au long de l'expérience jusqu'au stade ultime du prélèvement, représentait le moyen le plus sensible pour apprécier l'état normoxique ou non du myocarde.

L'E.C.G. étant enregistré dès le début de l'expérience, l'animal venant juste d'être immobilisé sur la platine après l'anesthésie, nous nous sommes efforcés de maintenir un tracé électrocardiographique convenable tout au long du déroulement des interventions qui amènent le coeur dans une position permettant de le saisir entre les mors de la pince congelante. Le but que nous nous propositions était d'essayer d'obtenir, au moment du prélèvement chez les témoins, un tracé électrocardiographique qui puisse être considéré comme pratiquement normal par un médecin. En effet, compte tenu que chez le cobaye la forme du tracé est identique à celle enregistrée chez l'homme, aux différences près d'amplitude et de rythme (LAMARCHE & Coll. 95 et 96) et, compte tenu du caractère hautement empirique de l'électrocardiographie et de l'état fragmentaire de l'information physiologique actuellement disponible (RICHARD & Coll. 147), l'interprétation d'un E.C.G. est essentiellement une confrontation avec ce que l'on sait des données de la pathologie humaine. La section des nerfs pneumogastriques a été pratiquée pour éviter, au cours des épreuves anoxiques, la survenue d'une dissociation auriculo-ventriculaire précoce due à la mise en jeu réflexe du nerf vague (59 et 163), ce qui gêne considérablement l'interprétation des tracés ; dans nos conditions expérimentales, la survenue de la dissociation auriculo-ventriculaire, au cours de l'épreuve anoxique, pourra être exclusivement attribuée à la souffrance anoxique du tissu de conduction.

4- Influence de la vagotomie sur la teneur du myocarde en PC et en ATP -

Dans une publication récente, GARBULINSKI et Coll.(62) rapportent que chez le rat, 8 minutes après vagotomie bilatérale au niveau du cou, il existe une réduction de la teneur du myocarde en PC de près de 25 %, celle-ci passant de 4, 36 $\mu\text{M/g}$ dans les témoins à 3, 25 $\mu\text{M/g}$ chez les vagotomisés, tandis que la teneur en ATP baisse légèrement, passant de 3, 62 μM chez les témoins à 3, 26 μM chez les vagotomisés. Dans le prélèvement que nous avons effectué 3 minutes après la manoeuvre de basculement, après avoir omis de sectionner les pneumogastriques, nous n'avons pas observé une telle réduction, puisqu'aussi bien les valeurs de PC (11, 6 $\mu\text{M/g}$) que d'ATP (5, 3 $\mu\text{M/g}$) restaient comparables aux résultats obtenus sur des prélèvements effectués entre 3 et 5 minutes après la vagotomie.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS OBTENUS AU COURS DE L'ANOXIE

I- EVOLUTION DE LA TENEUR DU MYOCARDE EN $\sim P$ AU COURS DE L'ANOXIE ANOXIQUE -

On sait (FLECKENSTEIN & Coll. 56) que dans le coeur de cobaye l'ATP et la PC représentent pratiquement à eux seuls le stock de liaisons phosphates riches en énergie. Dans le but d'étudier la dynamique de l'évolution du pool de $\sim P$ du myocarde au cours de la phase d'installation de l'anoxie, il est donc suffisant de se borner à l'étude des variations des teneurs du tissu en PC et en ATP.

Trois minutes après le basculement du coeur sur son pédicule, l'appareil à ventilation assistée débite de l'azote pur à la place de l'air ambiant jusqu'ici utilisé. La durée de l'anoxie est calculée à partir du moment où l'azote pénètre dans la trachée de l'animal, c'est-à-dire qu'est défalqué le temps nécessaire à la purge des tuyauteries reliant la canule trachéale à la pompe BRAUN. Dans la figure IV₁, sont groupés les résultats de quelques soixante dosages effectués sur des prélèvements pratiqués pendant les 90 premières secondes de l'anoxie : à l'allure exponentielle de la chute de la teneur en PC s'oppose celle beaucoup plus ménagée de la diminution de la teneur en ATP qui, grossièrement, apparaît linéaire en fonction de la durée de l'anoxie. Ainsi, 40 secondes après le début de l'anoxie, la teneur en PC n'est plus que d'environ 0,20 μM pour 100 mg de poids frais, alors qu'elle est en moyenne de 1,225 μM chez les animaux normoxiques, par contre la teneur en ATP au même moment est encore peu différente (voisine de 0,40 μM /100 mg de poids frais) de sa valeur en normoxie qui est de 0,463 μM . Si l'on

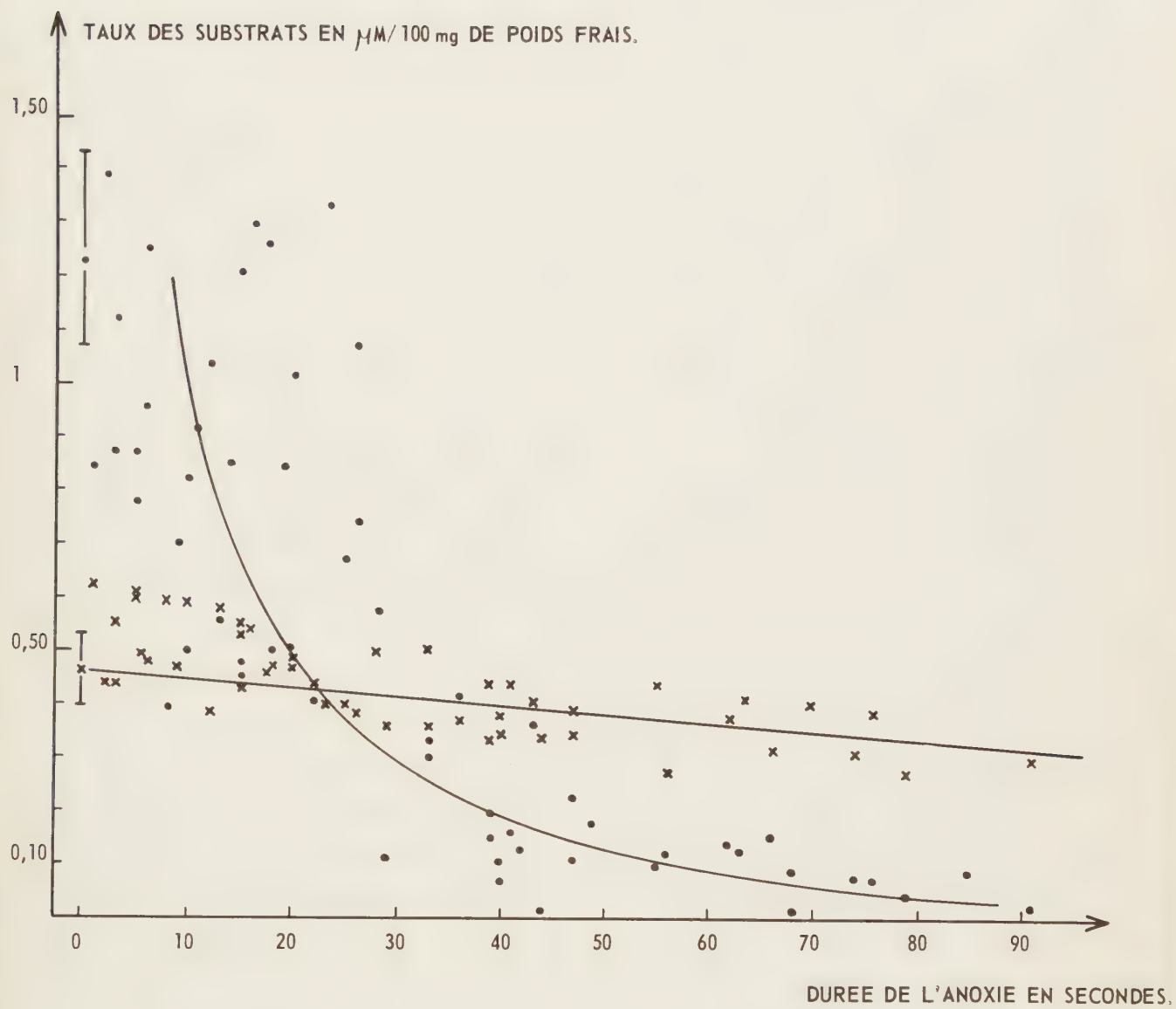


Figure IV. 1 - Evolution des taux de PC (•) et d'ATP (x) dans le myocarde en fonction de la durée de l'anoxie. Au temps zéro, moyenne des témoins avec indication des résultats extrêmes.



considère, pendant ces 40 premières secondes d'anoxie, uniquement les prélèvements dans lesquels ont été dosés simultanément la PC et l'ATP, on observe que le cœur, où la teneur en PC reste encore comparable à celle des témoins, voit sa teneur en ATP garder une valeur voisine de celle des animaux normoxiques, par contre l'organe qui voit sa teneur en PC s'effondrer semble présenter simultanément une augmentation de sa teneur en ATP comme le montre le tableau IV₁ où les résultats sont classés selon les valeurs décroissantes des teneurs en PC. Si, au cours de l'anoxie, la PC et l'ATP diminuaient simultanément, dans les prélèvements pour lesquels la teneur en PC est inférieure à $1 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais, c'est-à-dire nettement inférieure à la moyenne observée dans notre lot d'animaux témoins normoxiques ($1,225 \mu\text{M} \pm 0,086$), les teneurs en ATP devraient être inférieures à la moyenne observée dans notre lot d'animaux témoins normoxiques ($0,463 \mu\text{M} \pm 0,043$). Or, cela ne semble pas être le cas tout au moins si on considère les taux d'ATP mesurés dans les prélèvements où la teneur en PC, tout en étant diminuée, n'est pas encore véritablement effondrée (groupe B du Tableau IV₁).

Pendant les premières secondes d'une agression anoxique brutale telle que nous la réalisons, l'ATP est toujours utilisé selon les schémas fonctionnels normaux de la cellule, c'est-à-dire que la réaction fondamentale qui est la source de l'énergie dépensée par la cellule (MEERSON 114-a) est toujours une hydrolyse de l'ATP avec apparition d'ADP. L'accepteur d'électrons étant brutalement supprimé, une deuxième réaction d'hydrolyse assure l'approvisionnement cellulaire en ATP : la réaction de LOHMANN évoluant dans le sens 1 :



On sait (KUBY 94) que l'ATP : créatine phospho-transférase est suffisamment active pour que l'ADP formé lors de l'hydrolyse de l'ATP soit immédiatement rephosphorylé aux dépens de la PC. La quantité d'ADP présente dans le myocarde est suffisamment faible (56 et 58) par rapport à la teneur de celui-ci en PC et en ATP pour que l'on puisse négliger la mise en jeu de la réaction myokinase pendant la phase d'installation d'une anoxie anoxique brutale.

GROUPE A		GROUPE B		GROUPE C	
Taux de PC > 1 μ M		0,45 < PC < 1 μ M		Taux de PC < 0,45 μ M	
Taux de PC	Taux d'ATP yA	Taux de PC	Taux d'ATP yB	Taux de PC	Taux d'ATP yC
1,430	0,420	0,980	0,545	0,415	0,370
1,390	0,440	0,950	0,480	0,405	0,440
1,340	0,400	0,945	0,430	0,395	0,595
1,320	0,485	0,895	0,595	0,360	0,405
1,300	0,540	0,870	0,550	0,330	0,505
1,300	0,510	0,870	0,610	0,300	0,360
1,270	0,460	0,845	0,625	0,230	0,395
1,255	0,400	0,790	0,510	0,230	0,450
1,250	0,475	0,780	0,600	0,200	0,330
1,250	0,495	0,740	0,385	0,160	0,440
1,225	0,485	0,700	0,470	0,155	0,320
1,220	0,520	0,670	0,400	0,150	0,440
1,210	0,430	0,575	0,500	0,140	0,375
1,190	0,405	0,555	0,580	0,130	0,415
1,180	0,510	0,505	0,590	0,120	0,275
1,180	0,420	0,500	0,490	0,110	0,345
1,160	0,430	0,500	0,470	0,110	0,360
1,160	0,530	0,475	0,545	0,105	0,345
1,115	0,440	0,455	0,530	0,100	0,445
1,100	0,535			0,080	0,310
1,070	0,450			0,075	0,390
1,040	0,385			0,070	0,385
1,020	0,470				
SOMMES.....		10,635	9,904	8,695	
MOYENNES des taux d'ATP :					
$M_A = \frac{10,635}{23} = 0,462$		$M_B = \frac{9,904}{19} = 0,521$		$M_C = \frac{8,695}{22} = 0,395$	

TABLEAU IV₁ - Résultats des dosages pratiqués sur des prélèvements effectués sur des animaux normoxiques et anoxiques et dans lesquels ont été dosés simultanément la PC et l'ATP (données numériques de la figure IV₂) - Les résultats exprimés en μ M/100 mg de poids frais sont divisés en 3 groupes d'après les valeurs du taux de PC.

TAUX D'ATP EN $\mu\text{M}/100\text{mg}$ DE POIDS FRAIS.

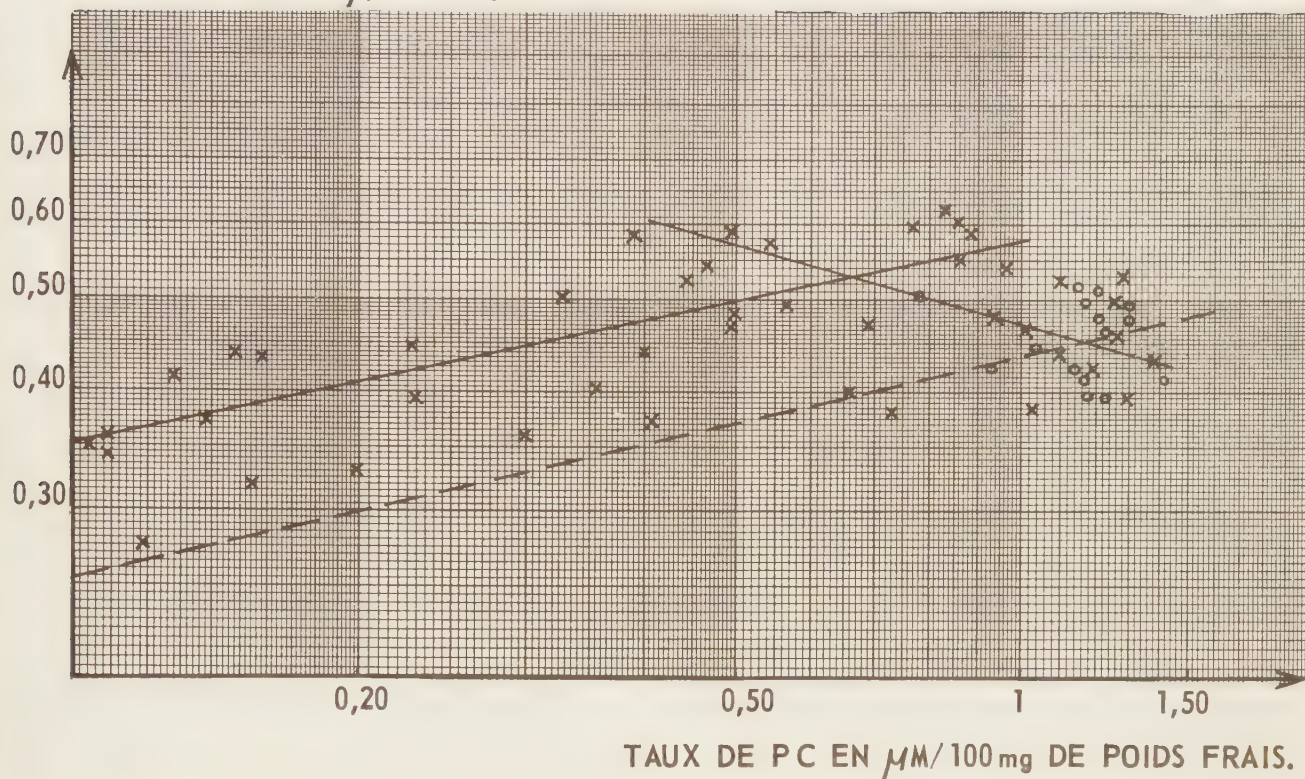


Figure IV.2 - Diagramme de dispersion montrant l'évolution relative, au cours de l'anoxie, des teneurs du myocarde en ATP et en PC.

○ = Cobayes témoins.

× = Cobayes anoxiques.

En traits pleins, ont été tracés empiriquement, deux axes autour desquels semblent se distribuer les points expérimentaux; en pointillés, tracé d'un axe type autour duquel devrait se faire la distribution expérimentale si dès le début de l'anoxie, les taux de PC et d'ATP diminuaient simultanément.



Pendant cette phase d'installation de l'anoxie cellulaire, tout se passe comme si deux réactions d'hydrolyse assuraient seules la poursuite normale du fonctionnement cardiaque. A ces deux réactions d'hydrolyse peut s'appliquer la relation de WILHELMY (182), c'est-à-dire que les concentrations cellulaires respectives de PC et d'ATP vont avoir tendance à diminuer de façon exponentielle en fonction du temps i.e. de la durée de l'anoxie. Alors, si l'on exprime en coordonnées logarithmiques l'évolution relative des teneurs en ATP et en PC, on aura une idée du bilan énergétique entre la consommation d'ATP et sa production par la réaction de LOHMANN évoluant dans le sens 1.

Dans la figure IV₂, sont rapportés les résultats concernant les prélèvements pratiqués au cours de l'épreuve anoxique et dans lesquels ont été dosés simultanément la PC et l'ATP. En pointillés, un axe a été dessiné sur la figure qui indique la courbe moyenne autour de laquelle on pouvait penser que se distribueraient les points expérimentaux, la PC et l'ATP diminuant respectivement de façon exponentielle. En fait, la distribution expérimentale prend une allure en "chapeau de gendarme", comme si, au début de l'agression anoxique, apparaissait une élévation de la teneur en ATP de l'organe.

Les résultats exposés dans la figure IV₂ peuvent être divisés en 3 groupes d'après le taux de PC exprimé en abscisses : Cf. tableau IV₁.

- Un premier groupe A correspondant aux prélèvements dans lesquels la teneur en PC est supérieure à 1 $\mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais.

- Un deuxième groupe B correspondant aux prélèvements où la teneur en PC est comprise entre 0,45 et 1 μM .

- Enfin, un troisième groupe C englobant les prélèvements dont le taux de PC est inférieur à 0,45 μM .

Si on compare les teneurs moyennes en ATP de ces 3 groupes, respectivement $M_A = 0,462 \mu\text{M}$, $M_B = 0,521 \mu\text{M}$, $M_C = 0,395 \mu\text{M}$, on constate effectivement, Cf. tableaux IV₁ et IV₂, que ces trois moyennes diffèrent significativement dans leur ensemble ($F^2_{61} = 20,3$; $p < 0,001$ et que M_A est plus petite que M_B ($|t_{61}| = 3$; $p < 0,01$), tandis que M_C est inférieure à M_A ($|t_{61}| = 3,5$; $p < 0,01$).

:	: SOMME DES CARRÉS DES ECARTS	: D D L	: VARIANCE	: F	:
:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:
: ENTRE MOYENNES	: 0, 1631	: 2	: 0, 0815	:	:
:	:	:	:	: $F_{61}^2 =$	:
: ERREUR	: 0, 2447	: 61	: 0, 0040	: 20, 3:	:
:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:
: TOTAL	: 0, 4078	: 63	:	:	:
:	:	:	:	:	:

$$- N = n_A + n_B + n_C = 64$$

$$- \text{Total général des } y = T_G = 29, 234$$

$$- \text{Total général des } y^2 = 13, 7614$$

$$- \frac{(\sum y_A)^2}{n_A} + \frac{(\sum y_B)^2}{n_B} + \frac{(\sum y_C)^2}{n_C} = 13, 5166$$

$$- \frac{T_G^2}{N} = 13, 3535$$

TABLEAU IV₂ - Comparaison des moyennes $\bar{M}_A$, $\bar{M}_B$ et $\bar{M}_C$ du tableau IV₁ -
Analyse de la variance.

Ainsi, au tout début de l'agression anoxique, la réaction de LOHMANN semble suffisamment puissante pour assurer non seulement le maintien de la teneur en ATP du myocarde, mais même semble capable de renforcer la valeur du potentiel énergétique que représente l'ATP.

Avec la poursuite de l'anoxie, la distribution expérimentale redevient du type de celle attendue, mais décalée dans le temps. En d'autres termes, la teneur en ATP après avoir augmenté ne commence à diminuer qu'après un certain temps après le début de l'agression anoxique tissulaire et ne devient inférieure à sa valeur en normoxie qu'à partir du moment où la PC est véritablement effondrée, c'est-à-dire dans nos conditions expérimentales sensiblement entre 40 et 50 secondes après le début de l'anoxie. C'est au moment où la teneur en ATP devient inférieure à sa valeur en normoxie que le coeur commence à se laisser distendre, devient mou et inefficace ; malheureusement, nous ne pouvons objectiver cette observation car nous n'avons pas enregistré parallèlement les pressions intra-cardiaques. Cependant, elle concorde parfaitement avec la notion de phase de réversibilité biochimique complète décrite par OLSON (132 a) et avec le fait, souligné par le même auteur, que la défaillance cardiaque survient en anoxie alors que la teneur de l'organe en ATP est encore considérable. Ainsi, au moment où le coeur devient défaillant, si la teneur en PC est bien effondrée (inférieure à 0, 20 μ M/100 mg de poids frais, soit moins de 20 % de sa valeur en normoxie), la teneur en ATP est encore importante, puisque supérieure à 0, 30 μ M pour 100 mg de poids frais, soit presque 65 % de sa valeur en normoxie. Il y a là un argument en faveur de la compartimentation fonctionnelle de l'ATP dans la cellule myocardique (MEERSON, 114 b).

II- EVOLUTIONS, AU COURS D'UNE ANOXIE ANOXIQUE, DE LA TENEUR DU MYOCARDE EN PHOSPHORYLCREATINE ET DE L'ELECTROCARDIOGRAMME -

Dans la figure IV₁, la dispersion des résultats des dosages de PC, aussi bien pour les témoins que pour les prélèvements anoxiques de longue durée, est relativement faible ; il n'en est plus de même pour les dosages réalisés au moment où le taux de PC s'effondre, c'est-à-dire pendant les 30 premières secondes de l'anoxie. Cet effondrement brutal de la PC cellulaire sous l'influence de l'anoxie a-t-il une traduction électrocardiographique ?

Les tracés électrocardiographiques réalisés au cours des épreuves anoxiques ont été mis à part avec l'indication de la date et du poids de l'animal. Quand fut obtenu un nombre suffisant de dosages permettant d'avoir une idée de l'aspect de la dynamique de l'évolution du taux des substrats riches en énergie au cours de l'anoxie, les tracés furent interprétés à l'aveugle pour :

- déterminer l'aspect du tracé E.C.G. :
 - avant le basculement du coeur ;
 - après le basculement avant la mise en oeuvre de l'épreuve anoxique, de manière à éliminer tous les animaux présentant des altérations de ST avant l'épreuve anoxique, ou un tracé ininterprétable ;
 - au moment du prélèvement.
- noter : tout au long de l'épreuve anoxique, les délais d'apparition des altérations E.C.G. anoxiques : modification de l'onde T, du segment ST et dissociation auriculo-ventriculaire.

La confrontation des résultats des lectures des tracés et des dosages nous permet de remarquer que :

I°- Les modifications les plus précoces survenant sur le tracé E.C.G. concernaient l'onde T, mais qu'il nous était impossible de systématiser ces modifications.

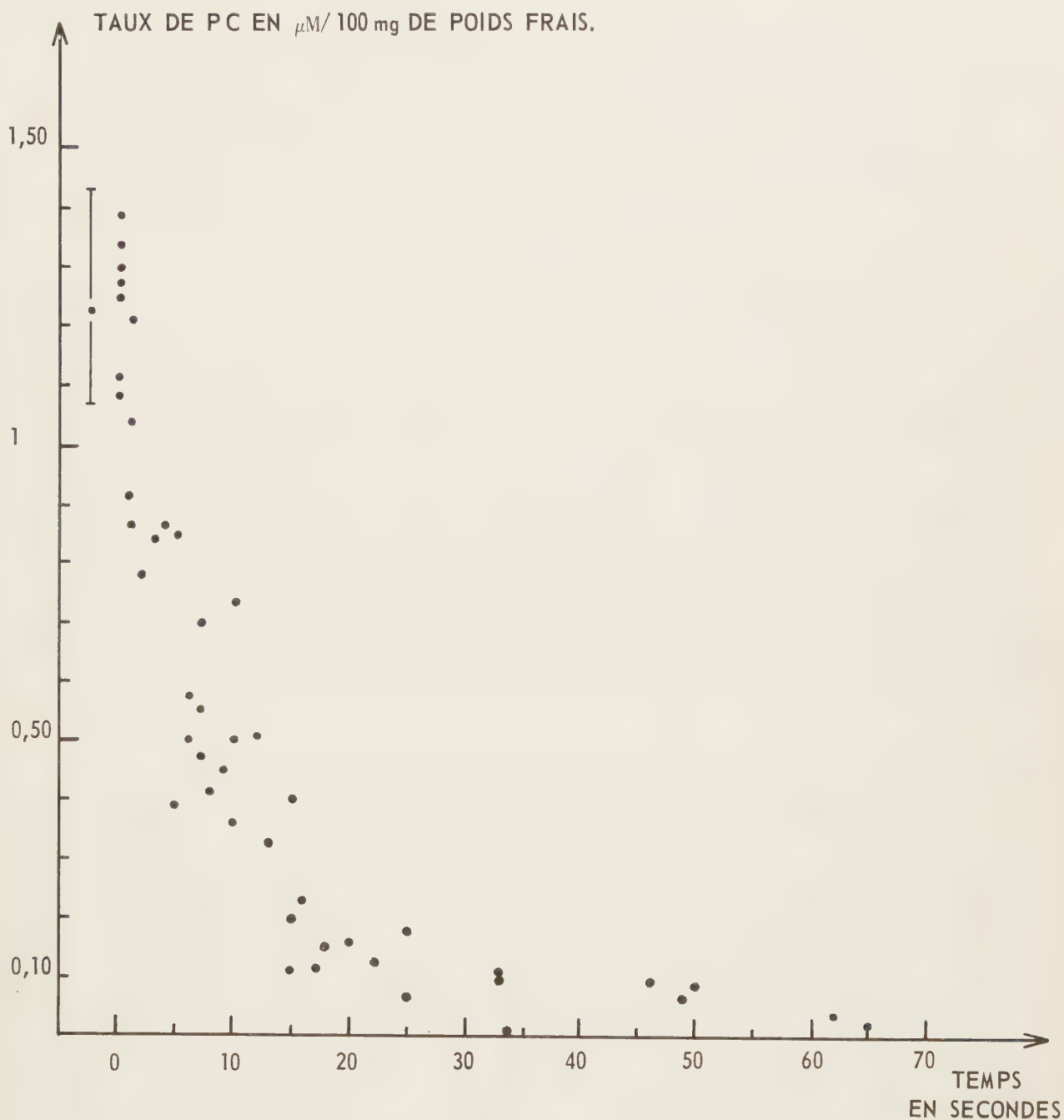


Figure IV.3 - Évolution de la teneur du myocarde en PC en fonction du temps écoulé entre l'apparition des modifications anoxiques du segment ST et le prélèvement.
 A l'extrême gauche moyenne des témoins avec indication des résultats extrêmes. Au temps zéro résultats des prélèvements anoxiques pour lesquels l'E.C.G. ne présentait pas d'altération du segment ST.



2°- Les délais d'apparition de la dissociation auriculo-ventriculaire, comparés en abscisses dans la figure IV₁ avec la durée de l'anoxie, correspondaient systématiquement à une époque de l'épreuve anoxique où le taux de PC est pratiquement devenu négligeable depuis longtemps (plus petit que 0, 15 micromoles pour 100 mg de poids frais).

3°- Les délais d'apparition des modifications lésionnelles du segment ST, quand le tracé avait été enregistré suffisamment tôt pour permettre leur détermination et leur comparaison, en abscisses de la figure IV₁, avec la durée de l'anoxie, correspondaient systématiquement avec la zone d'effondrement du taux de PC. Nous fûmes alors amenés (9) à exprimer l'évolution du taux de PC, non pas en fonction de la durée de l'anoxie mais en fonction du temps écoulé depuis le moment où apparaît sur l'E.C.G. la modification lésionnelle de ST : figure IV₃. Dans certaines expériences, l'enregistrement E.C.G. en continu a été démarré trop tardivement pour permettre une détermination du moment d'apparition du courant de lésion et, ainsi, dans la figure IV₃, le nombre des résultats rapportés est inférieur à celui rapporté dans la figure IV₁.

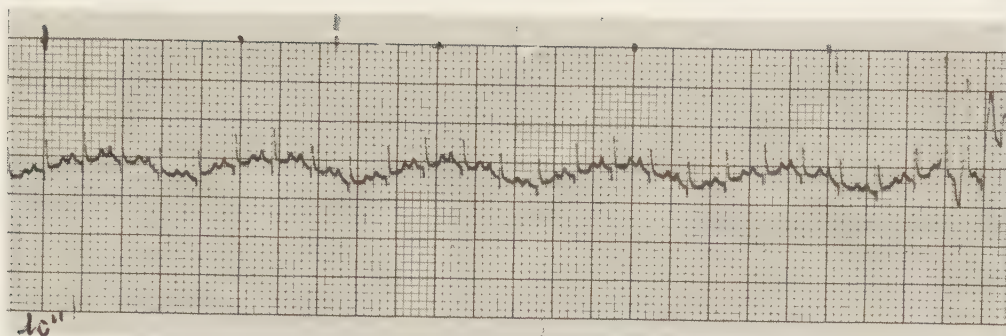
Dans le coeur "in situ", l'évolution du taux de la PC en fonction de la durée de l'anoxie (figure IV₁) montre à l'évidence qu'il existe, ici comme ailleurs, une grande susceptibilité individuelle, et ce phénomène se retrouve dans l'évolution de l'E.C.G., en fonction de la durée de l'anoxie. Mais le point important à souligner c'est que pour un même animal, il existe, dans nos conditions expérimentales et pendant les 45 premières secondes de l'épreuve anoxique, un parallélisme entre l'évolution de l'E.C.G., du moins en ce qui concerne l'apparition des altérations lésionnelles du segment ST et l'évolution du taux de PC. La figure IV₃ permet de dessiner cette relation entre l'apparition du phénomène lésionnel sur l'E.C.G. et l'effondrement du taux de la PC tissulaire : l'évolution de la teneur du myocarde en PC n'y est plus exprimée en fonction de la durée de l'anoxie, mais en fonction du temps écoulé entre l'apparition des altérations lésionnelles sur l'E.C.G. et le prélèvement. Cette figure fait en particulier clairement ressortir que tant que le taux de PC d'un animal soumis à une épreuve anoxique demeure identique au taux physiologique, son tracé électrocardiographique, enregistré au cours

de l'épreuve, ne présente pas l'altération anoxique de ST ; par contre, dès que, dans les prélèvements effectués sur des animaux anoxiques, le taux de PC est diminué, alors le phénomène lésionnel est présent sur le tracé.

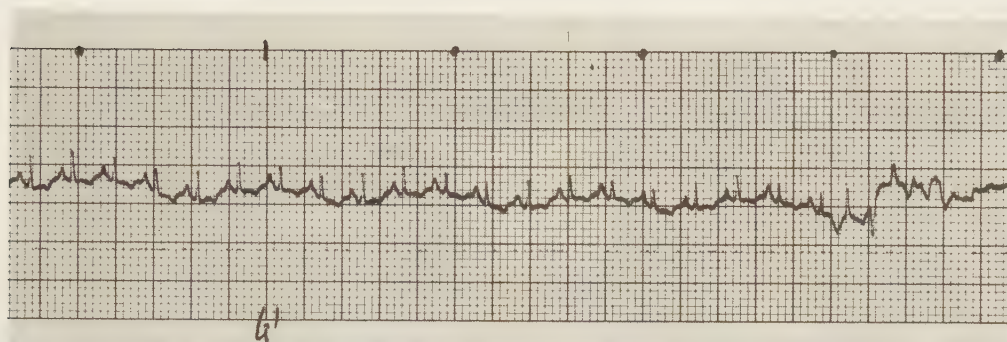
Dans le tableau IV₃, sont rapportés les résultats des dosages pratiqués sur des cobayes soumis à l'épreuve anoxique et dont les tracés E.C.G. ne présentent pas d'altération anoxique de ST, au moment du prélèvement, comme le montre la figure IV₄. Il apparaît clairement que les teneurs du myocarde de ces animaux en substrats riches en énergie ne sont pas différentes de celles des animaux normoxiques, Cf. tableau III₂ (témoins 2ème lot du chapitre III).

ANIMAUX		PC en μ M pour	ATP en μ M	Durée anoxie
Poids	Age	100 mg de poids	pour 100 mg	en sec.
(g)	(sem.)	frais	de poids frais	
540	11	1, 39	0, 44	2
480	12	1, 115	0, 44	3
710	14	1, 25	0, 495	6
620	13	1, 30	0, 54	16
700	19	1, 27	0, 46	17
670	14	1, 34	0, 40	23
700	24	1, 075	non dosé	26

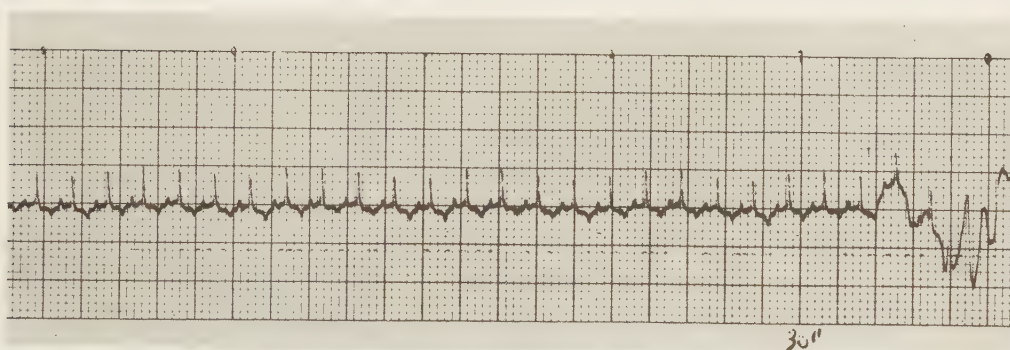
TABEAU IV₃ - Teneur en PC et en ATP du myocarde d'animaux soumis à une épreuve anoxique et ne présentant pas d'altérations anoxiques du segment ST sur l'E.C.G. au moment du prélèvement.



A



B



C

Figure IV.4 - E.C.G. enregistrés (25mm/s, DII) au moment du prélèvement chez des animaux dont les teneurs en V P sont rapportées dans le tableau IV.3. Le prélèvement s'inscrit dans le décours de la dernière seconde de l'enregistrement; noter la modification du complexe QRST quand le cœur se trouve placé entre les mors de la pince congelante.

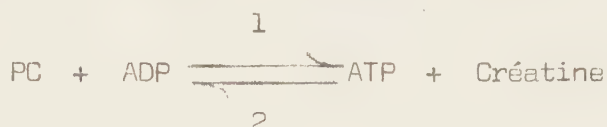
Tracé A - Cobaye pesant 540 g, âgé de 11 semaines.

Tracé B - Cobaye pesant 710 g, âgé de 14 semaines.

Tracé C - Cobaye pesant 700 g, âgé de 19 semaines.



Supposons, et c'est vraisemblable, que dans nos conditions expérimentales, au tout début de la brutale agression anoxique que nous réalisons, l'ATP étant toujours utilisé selon les schémas fonctionnels normaux de la cellule, l'effondrement observé de la teneur tissulaire en PC correspond au déplacement de la réaction de LOHMANN (105) dans le sens 1.



A cette réaction d'hydrolyse de la PC, peut s'appliquer la relation de WILHELMY (182) qui s'écrit :

$$\text{Log } c = - Kt + \text{Log } c_0$$

où) c_0 est la concentration de PC au temps zéro,
 (début de l'hydrolyse de la PC.
 (
) c est la concentration de PC au temps t .

S'il est vrai que le temps zéro ainsi défini puisse être identifié avec le moment où apparaissent, sur l'E.C.G., les altérations anoxiques du segment ST, alors t sera le temps écoulé x , entre l'apparition de ces altérations électrocardiographiques et le moment du prélèvement. La figure IV₅ représente l'évolution de la teneur du myocarde en PC, exprimée en valeur logarithmique, en fonction du temps écoulé entre l'apparition des modifications lésionnelles de ST et le prélèvement : la figure IV₅ n'est autre que la figure IV₃ transformée en coordonnées semi-logarithmiques.

Le tableau IV₄ groupe les données numériques correspondant à la figure IV₅.

Taux de PC en $\mu\text{M}.100$	log Taux PC en $\mu\text{M}.100$ y	γ^2	Temps entre $\uparrow\downarrow$ ST et prélèvement X	X^2	X.Y
107, 5	2, 0314	4, 1266	0	0	0
125	2, 0969	4, 3970	0	0	0
111, 5	2, 0473	4, 1913	0	0	0
139	2, 1430	4, 5925	0	0	0
130	2, 1139	4, 4687	0	0	0
127	2, 1038	4, 4260	0	0	0
134	2, 1271	4, 5246	0	0	0
104	2, 0170	4, 0683	1	1	2, 0170
91, 5	1, 9614	3, 8472	1	1	1, 9614
87	1, 9395	3, 7617	1	1	1, 9395
121	2, 0828	4, 3380	1	1	2, 0828
78	1, 8921	3, 5800	2	4	3, 7842
84, 5	1, 9269	3, 7128	3	9	5, 7806
86, 5	1, 9370	3, 7520	4	16	7, 7481
85	1, 9294	3, 7227	5	25	9, 6471
39, 5	1, 5966	2, 5491	5	25	7, 9830
57, 5	1, 7597	3, 0964	6	36	10, 5580
50	1, 6990	2, 8865	6	36	10, 1938
70	1, 8461	3, 4044	7	49	12, 9157
47, 5	1, 6767	2, 8113	7	49	11, 7368
55, 5	1, 7443	3, 0425	7	49	12, 2100
41, 5	1, 6181	2, 6181	8	64	12, 9444
45	1, 6532	2, 7331	9	81	14, 8789
36	1, 5563	2, 4221	10	100	15, 5630
74	1, 8692	3, 4940	10	100	18, 6923
50	1, 6990	2, 8865	10	100	16, 9897
51	1, 7076	2, 9158	12	144	20, 4908
33	1, 5185	2, 3059	13	169	19, 7406
40, 5	1, 6075	2, 5839	15	225	24, 1119
11	1, 0414	1, 0845	15	225	15, 6209
20	1, 3010	1, 6927	15	225	19, 5155
23	1, 3617	1, 8543	16	256	21, 7877
11	1, 0414	1, 0845	17	289	17, 7036
15	1, 1761	1, 3832	18	324	21, 1696
16	1, 2041	1, 4499	20	400	24, 0824
13	1, 1139	1, 2409	22	484	24, 5067
7	0, 8451	0, 7142	25	625	21, 1275
18	1, 2553	1, 5757	25	625	31, 3818
SOMMES	64, 240	114, 339	316	4738	440, 865
$\Sigma 2$	4 126, 82		99 856		

TABLEAU IV₄ - Données numériques correspondant à la figure IV₅.

Eléments du calcul du coefficient de régression $b_{y/x}$ du taux de PC, exprimé en unité logarithmique, sur le temps écoulé x entre l'apparition des altérations lésionnelles de ST et le prélèvement.

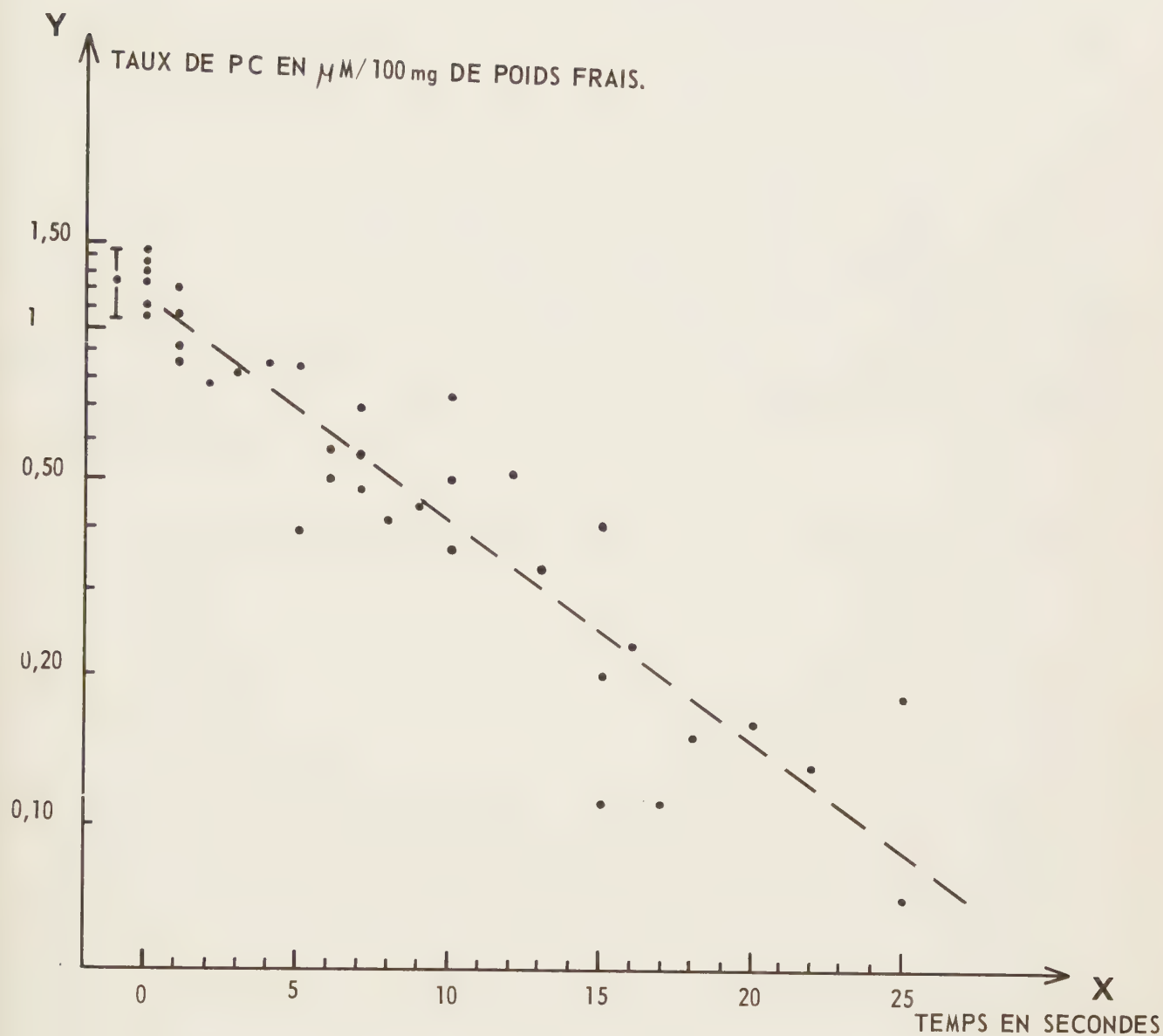


Figure IV.5 - Evolution de la teneur du myocarde en PC ($y = \log. c$) en fonction du temps écoulé x entre l'apparition des modifications anoxiques de ST et le prélèvement : Régression de $y = \log. c$ sur le temps écoulé x .

La valeur du coefficient de régression $b_{y/x}$ du taux de PC, exprimé en unité logarithmique ($y = \log c$), sur le temps écoulé x , entre l'apparition des altérations lésionnelles de ST et le prélèvement, est de $-0,0444$ (pente de la droite de régression).

La variance de $b_{y/x}$ est égale à $0,0000208$ et $t_{36} = 9,73$. Le coefficient de régression $b_{y/x}$ diffère de zéro d'une manière qui est donc très significative ($p < 0,001$). Par conséquent, pendant la phase initiale de l'anoxie où, dans le coeur, la teneur en PC diminue de façon exponentielle en fonction du temps, il existe une relation entre l'évolution de la teneur tissulaire en PC et les délais d'apparition des manifestations anoxiques lésionnelles sur l'E.C.G.

Cette relation s'écrit : $\log c = y = -0,0444 x + \log c_0$.

CHAPITRE V

RESULTATS OBTENUS SOUS L'EFFET DE LA DIGOXINE ET DE L'ADRENALINE

La mise en évidence d'une élévation transitoire de la teneur en ATP lors de la phase d'installation d'une anoxie anoxique hypocapnique dont on sait qu'elle s'accompagne d'un renforcement temporaire de la force de contraction ventriculaire (Cf. Thèse NOGUES 129) conduit à se demander si le même phénomène peut être retrouvé sous l'effet de substances pharmacologiques connues pour leur effet inotrope. L'observation qu'il existe une relation entre l'évolution de la teneur tissulaire en PC et les délais d'apparition des manifestations anoxiques lésionnelles sur l'E.C.G. amène à se demander si, dans un autre type d'agression que l'anoxie ayant une action sur le segment ST, telle que l'intoxication digitalique, une relation analogue peut être retrouvée.

I- EVOLUTION DE LA TENEUR DU MYOCARDE EN PC AU COURS D'UNE PERFUSION INTRA-VEINEUSE DE DIGOXINE ET A LA SUITE D'UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE D'ADRENALINE -

1- Cas de la digoxine -

Un lot de cobayes Hartley a été préparé comme nous l'avons déjà décrit. Un cathéter est mis en place dans une veine jugulaire. Le cathéter est branché sur une pompe à perfusion permettant d'injecter à vitesse constante (0, 1 ml par minute) une solution commerciale de digoxine NATIVELLE dosée à 0, 25 mg/ml.

21 dosages ont été réalisés sur des prélèvements effectués à différents moments au cours de la perfusion de digoxine. Les résultats de ces dosages sont groupés dans le tableau V₁ et présentés dans la figure V₁. Tant que l'imprégnation digitalique reste modérée, les teneurs en PC et en ATP du myocarde restent comparables à celles des témoins : le taux de PC est très élevé, celui d'ATP moyen. Au fur et à mesure que l'imprégnation digitalique s'accroît, on observe un phénomène analogue à celui relevé au cours des premières secondes de l'épreuve anoxique : la teneur en PC diminue alors que celle en ATP augmente. La figure V₂ montre que les résultats correspondant aux expériences faites avec la digoxine se distribuent autour de la droite tracée à l'aide des points expérimentaux recueillis au début de l'agression anoxique quand la teneur en ATP a tendance à augmenter. Cette distribution expérimentale commune des résultats obtenus sous l'effet d'agressions différentes semble confirmer la portée assez générale de notre observation.

2- Cas de l'adrénaline -

Des cobayes Hartley mâles ont été préparés comme nous l'avons décrit chapitre I. Après le basculement du cœur sur son pédicule et section des pneumogastriques au niveau du cou, une injection intra-veineuse d'adrénaline lévogyre est effectuée par un fin cathéter mis en place dans une veine

ANIMAUX			Digoxine	PC en μ M	ATP en μ M
N°	Poids (g)	Age (sem.)	Dose reçue au moment du prélèvement en mg/Kg	pour 100 mg de poids frais	pour 100 mg de poids frais
1	640	16	0, 08	1, 29	0, 525
2	690	14	0, 12	1, 32	0, 435
3	700	18	0, 18	1, 185	0, 54
4	660	18	0, 19	1, 125	0, 495
5	690	16	0, 22	0, 61	0, 60
6	650	15	0, 23	0, 47	0, 625
7	860	22	0, 23	1, 13	0, 55
8	660	19	0, 28	1, 025	0, 54
9	730	18	0, 36	1, 10	0, 51
10	800	23	0, 375	0, 545	0, 60
11	650	14	0, 38	0, 89	0, 42
12	650	11	0, 38	0, 69	0, 48
13	780	23	0, 385	0, 505	0, 535
14	850	23	0, 39	0, 955	0, 475
15	640	12	0, 40	1, 345	0, 40
16	630	12	0, 41	0, 78	0, 55
17	640	15	0, 47	0, 795	0, 45
18	600	11	0, 48	0, 46	0, 65
19	830	23	0, 50	0, 555	0, 53
20	640	13	0, 55	0, 695	0, 53
21	570	16	0, 65	0, 77	0, 53

TABEAU V₁ - Résultats des dosages effectués sur des prélèvements pratiqués au cours d'une perfusion intra-veineuse de digoxine.

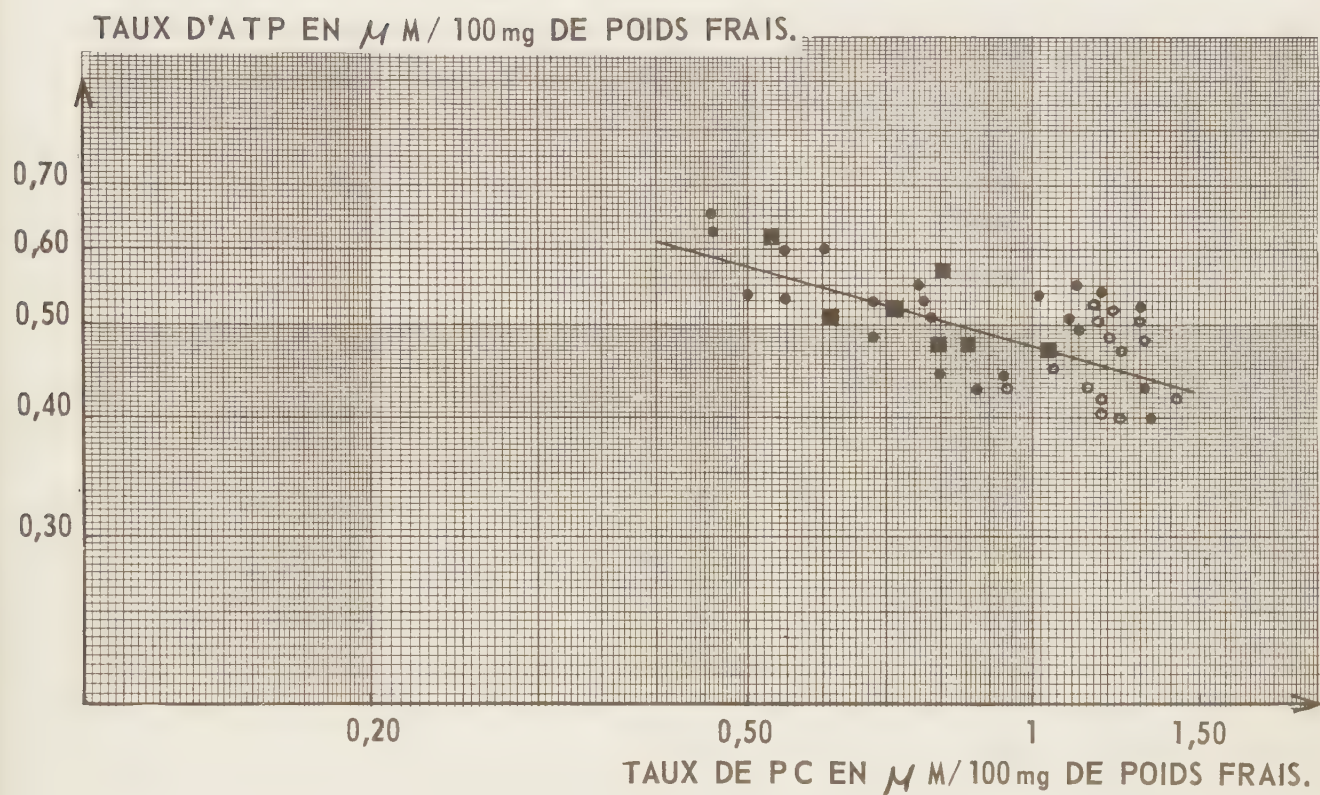


Figure V.1 - Evolution relative des teneurs du myocarde en ATP et en PC sous l'influence de la digoxine et de l'adrénaline.

- = Cobayes témoins.
- = Cobayes perfusés avec digoxine.
- = Cobayes ayant reçu une injection i.v. d'adrénaline.

TAUX D'ATP EN $\mu\text{M}/100\text{mg}$ DE POIDS FRAIS.

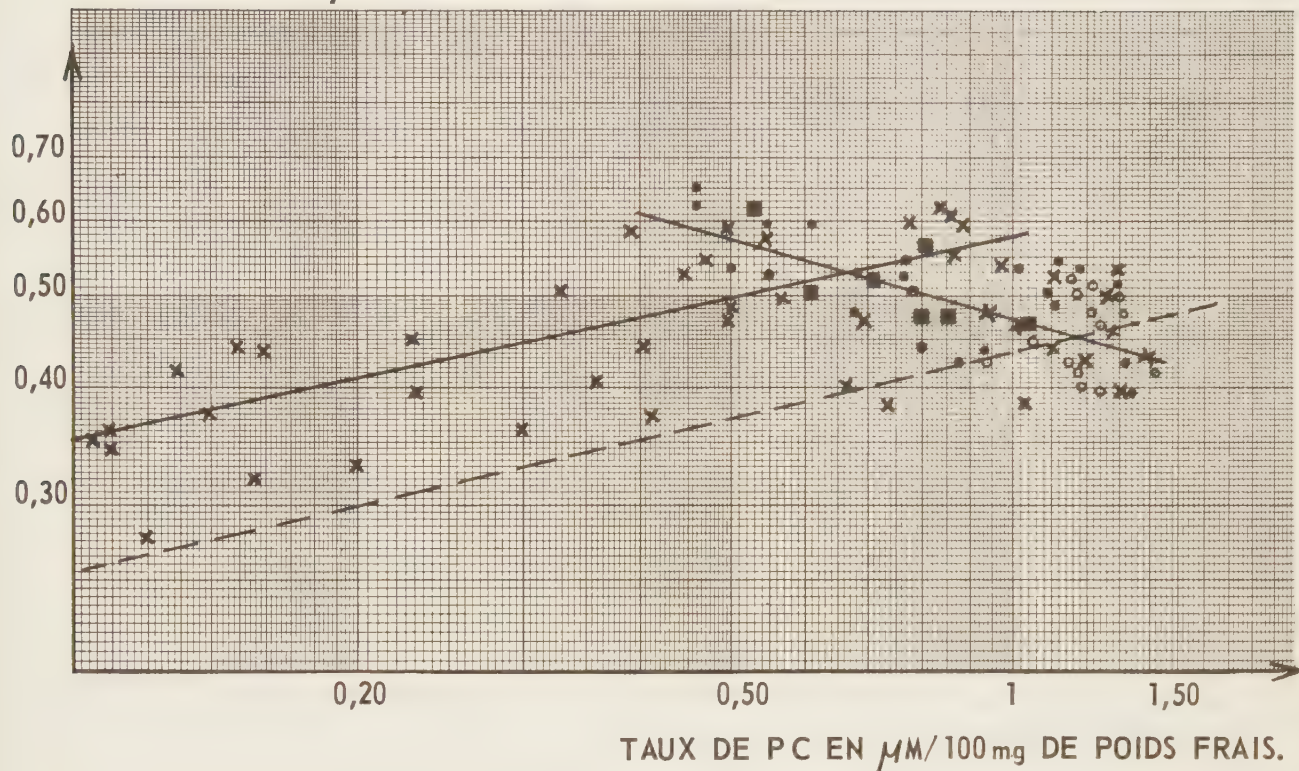


Figure V. 2 - Evolution relative des teneurs du myocarde en ATP et en PC, sous l'effet de l'anoxie, de la digoxine et de l'adrénaline.

- = Cobayes témoins.
- × = Cobayes anoxiques.
- = Cobayes perfusés avec digoxine.
- = Cobayes ayant reçu une injection i.v. d'adrénaline.

jugulaire. Le début et la fin de l'injection sont notés sur l'E.C.G. enregistré en continu. Le prélèvement est pratiqué entre 12 et 48 secondes après la fin de l'injection intra-veineuse. La durée de l'injection est de l'ordre de 7 à 8 secondes. La concentration de la solution injectée est de 0, 025 mg/ml. La quantité injectée est de l'ordre de 0, 50 ml pour un cobaye pesant 600g. Sept prélèvements ont été pratiqués dans ces conditions, les résultats des dosages sont rapportés dans le tableau V₂. Si ces résultats sont reportés sur les figures V₁ et V₂, il apparaît que ces points expérimentaux, obtenus sous l'effet de l'adrénaline, se distribuent autour du même axe de réponse que ceux obtenus sous l'effet de la digoxine et que ceux obtenus au cours des premières secondes de l'anoxie. Il semble donc bien que l'effet observé sous l'action des trois facteurs : anoxie, digoxine, adrénaline, corresponde à la mise en oeuvre du même mécanisme.

ANIMAUX		ADRENALINE:	Durée	Temps entre:	PC †	ATP †
N°	Poids (g) Age (sem.)	quantité injectée en mg/Kg	injection en sec.	la fin de l'injection et le pré- lèvement en sec.		
1	700 g 19 s	0, 023	6	12	0, 865	0, 485
2	650 g 14 s	0, 038	7	20	1, 05	0, 475
3	630 g 19 s	0, 020	8	25	0, 53	0, 625
4	650 g 14 s	0, 015	7	30	0, 605	0, 51
5	700 g 25 s	0, 014	13	36	0, 805	0, 57
6	600 g 14 s	0, 021	10	40	0, 795	0, 485
7	800 g 21 s	0, 0155	7	48	0, 715	0, 53

† - Les teneurs en PC et en ATP sont exprimées en μ M pour 100 mg de poids frais.

TABEAU V₂ - Résultats des dosages pratiqués à la suite d'une injection i.v. d'adrénaline.

II- ELECTROCARDIOGRAMME ET TENEUR DU MYOCARDE EN PHOSPHORYLCREATINE SOUS L'EFFET D'UNE SURCHARGE DIGITALIQUE AIGUE -

Dans la figure V₃, la teneur du myocarde en PC est exprimée en fonction de la dose de digoxine perfusée au moment du prélèvement. Dans nos conditions expérimentales, qui sont des conditions d'intoxication aiguë par voie intra-veineuse, on observe une diminution exponentielle de la teneur en PC du myocarde en fonction des doses croissantes de digoxine.

Par ailleurs, sous l'effet de la perfusion i.v. de digoxine, comme l'a déjà montré WEILLER (179), les troubles électrocardiographiques se succèdent selon un ordre stéréotypé, les premiers signes à apparaître étant les altérations du segment ST.

- Sur les 21 résultats rapportés dans le tableau V₁, six concernent des animaux (N° 1, 2, 3, 4, 7 et 15) pour lesquels le prélèvement a été pratiqué alors que l'enregistrement E.C.G. concomitant ne montrait pas d'altération lésionnelle du segment ST. Dans la figure V₄, sont rapportés les E.C.G. de ces animaux enregistrés respectivement au début de la perfusion et au moment du prélèvement. La moyenne estimée de ces six dosages : 1, 23 μ M/100 mg de poids frais et leur dispersion montrent que la teneur en PC du myocarde de ces animaux n'est pas significativement différente de celle des animaux témoins ventilés dans les mêmes conditions : $t = 0,18$ avec 18 degrés de liberté (cf. tableau V₃).

- Pour les quinze autres résultats du tableau V₁ concernant les expériences où l'enregistrement E.C.G. iso-électrique au début de la perfusion présentait, au moment du prélèvement, un sus ou un sous décalage de ST (cf. figure V₅), il n'en est plus de même, et les teneurs en PC sont plus faibles.

Si on admet que dans le coeur in situ, sous l'effet d'une agression quelconque qui se manifeste par l'apparition d'altération du segment ST de type lésionnel, c'est que corrélativement il y a une hydrolyse de la PC dans le

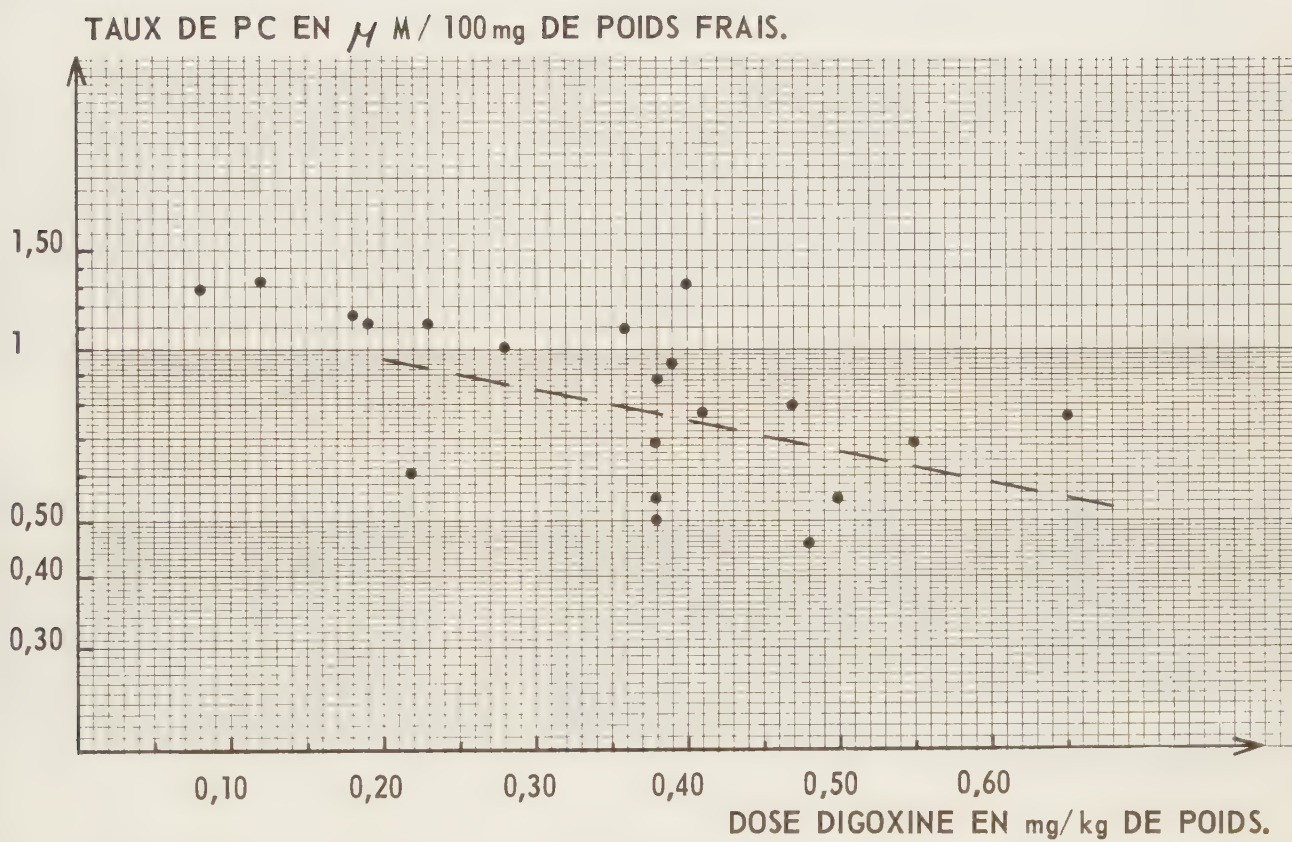
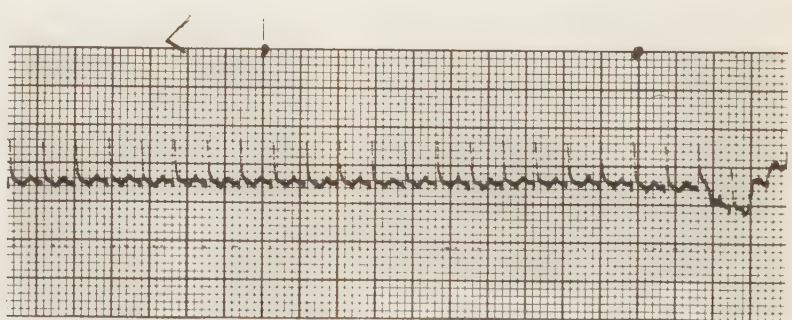
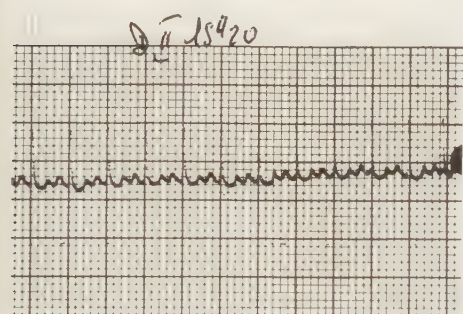
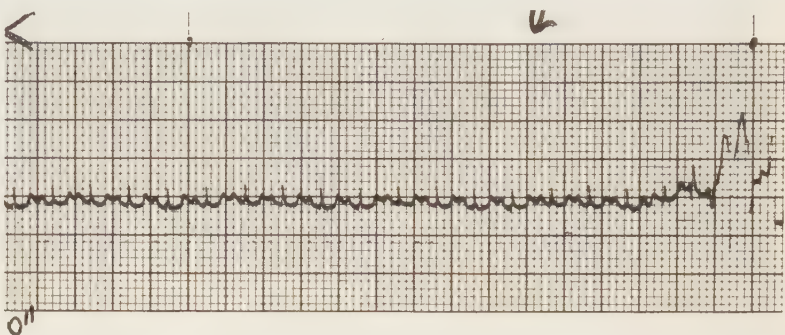
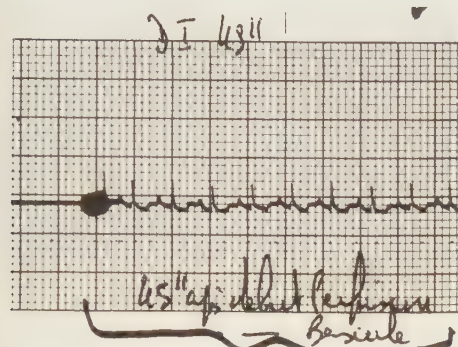
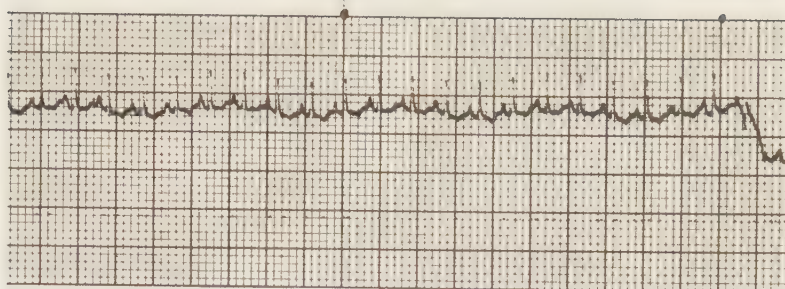
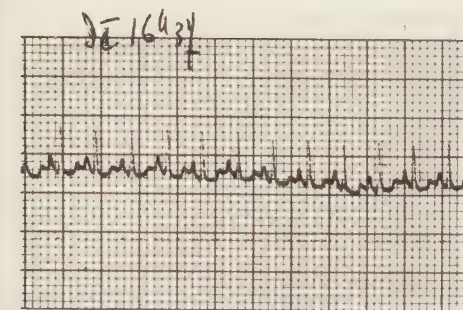


Figure V. 3 - Evolution de la teneur du myocarde en PC en fonction de la dose de digoxine reçue par l'animal au moment du prélèvement. Perfusion i.v. de digoxine = 0,025mg par minute.



SANBORN VISETTE Permapaper

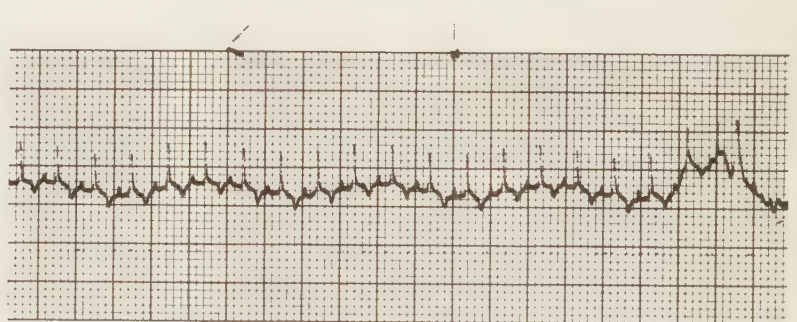
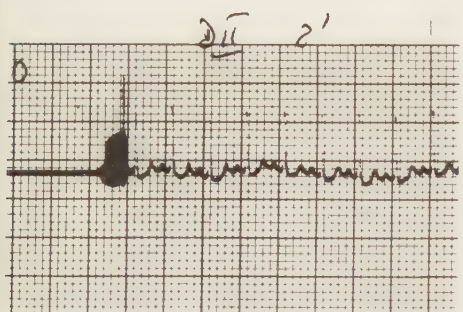
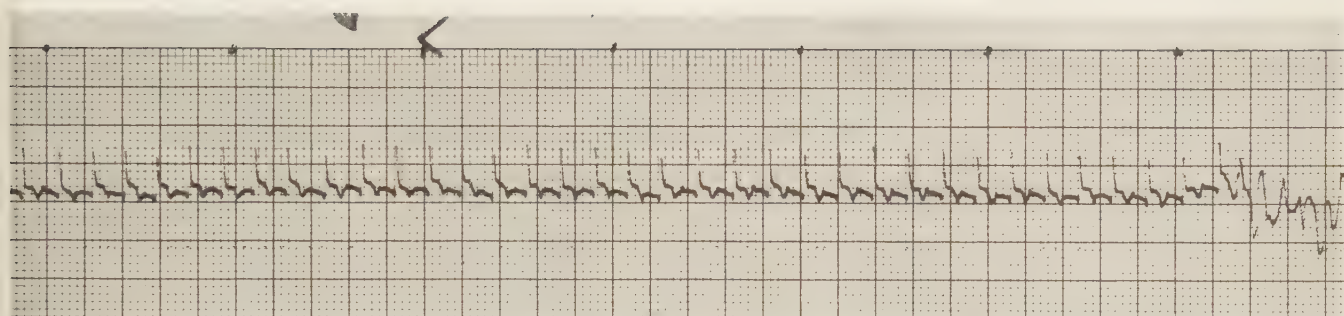


Figure V.4 - E.C.G. (25mm/s; DI ou DII) des animaux n° 1, 2, 4 et 7 du tableau V1, enregistrés respectivement au début de la perfusion de digoxine et, après la manœuvre de basculement, au moment du prélèvement.



FE Permapaper

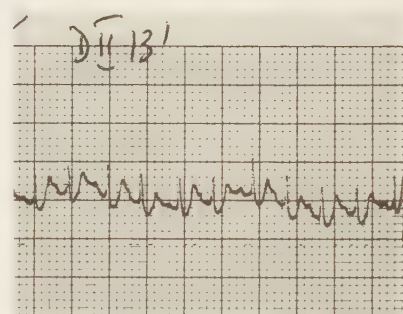
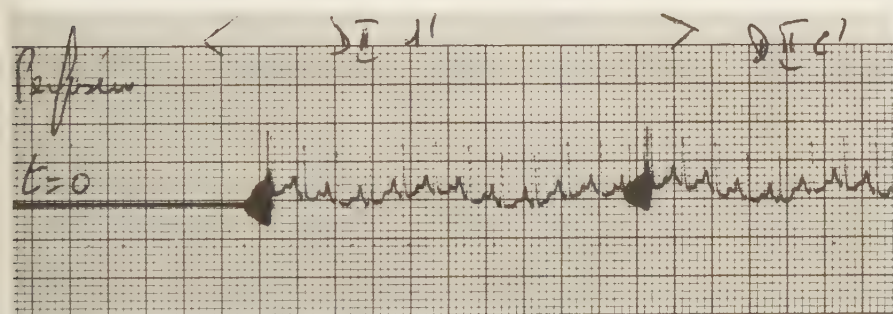


Figure V. 5 - E.C.G. (25mm/s DII) des animaux n°9 et 17 du tableau V1.

Tracé supérieur = animal n°9 au moment du prélèvement, aspect lésionnel analogue à un aspect rencontré au cours de l'anoxie (type susdéalage).

Tracé inférieur = animal n°17 : enregistrements respectivement au début et à la fin de la perfusion au moment du prélèvement (type sous-déalage).

COBAYES NORMOXIQUES		COBAYES DIGITALISES	
Teneur en PC en $\mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais	x_A^2	Teneur en PC en $\mu\text{M}/100 \text{ mg}$ de poids frais	x_B^2
1, 18	1, 392	1, 29	1, 664
1, 30	1, 690	1, 32	1, 742
1, 19	1, 416	1, 185	1, 404
1, 255	1, 575	1, 125	1, 266
1, 43	2, 045	1, 13	1, 277
1, 16	1, 346	1, 345	1, 809
1, 07	1, 145		
1, 22	1, 488		
1, 16	1, 346		
1, 225	1, 501		
1, 21	1, 464		
1, 32	1, 742		
1, 18	1, 392		
1, 25	1, 563		
17, 150	21, 105	7, 395	9, 162

MOYENNES : $\bar{x}_A = 1, 225 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$; $\bar{x}_B = 1, 233 \mu\text{M}/100 \text{ mg}$.

$$\text{VARIANCE COMMUNE : } \frac{\sum x_A^2 - \frac{(\sum x_A)^2}{n_A}}{n_A} + \frac{\sum x_B^2 - \frac{(\sum x_B)^2}{n_B}}{n_B} = 0, 008$$

TABLEAU V₃ - Comparaison entre la teneur myocardique en PC de 14 (n_A) cobayes normoxiques et celle de 6 (n_B) animaux digitalisés ne présentant pas d'altération lésionnelle de ST.

sens 1 de la réaction de LOHMANN (Cf. p. 47), alors on peut appliquer la relation de WILHELMY en prenant comme origine des temps le moment où on suppose que l'agression commence du point de vue tissulaire, c'est-à-dire le moment où apparaissent les premiers signes d'altération lésionnelles de ST. Si, dans ces conditions, est construite la courbe (Cf. figure V6) donnant l'évolution du taux de PC, exprimé en valeur logarithmique, en fonction du temps écoulé entre l'apparition des altérations digitales de ST et le prélèvement, une relation du même type est obtenue que celle observée quand le facteur d'agression est l'anoxie.

REMARQUES -

1- Dans le cas de l'intoxication aiguë par la digoxine administrée par voie i.v., la relation n'est observée que pour des variations relativement faibles du taux de PC. Ensuite, si la perfusion est prolongée, la mort de l'animal survient rapidement en rythmes ectopiques ventriculaires (179) et l'hypothèse, selon laquelle un excès de digoxine entraîne une hydrolyse de la PC dans le sens 1 de la réaction de LOHMANN, n'est vérifiée que pour le premier stade de l'intoxication.

2- Les résultats concernant l'animal N° 6 du tableau V1 n'ont pas été rapportés sur la courbe de la figure V3. Pour ce cobaye, en effet, qui pèse 650 g., la perfusion de digoxine a duré 6 minutes, mais le prélèvement n'a été effectué que 6 minutes après l'arrêt de la perfusion. Ceci nous conduit à penser qu'en fait la dose réelle à prendre en considération au niveau du ventricule de l'animal devrait être le double de celle réellement injectée comme il va en être discuté § 3.

3- En abscisses de la figure V3, est portée la dose de digoxine reçue par l'animal au moment du prélèvement. Cette dose est calculée à partir de la durée de perfusion réalisée à vitesse constante : 0, 025 mg de digoxine sont injectés chaque minute dans le torrent circulatoire de l'animal. Les perfusions de digoxine ont été interrompues par le prélèvement entre 2 et 18 minutes après leur début. Dans ces conditions, la diminution observée de la teneur en PC du

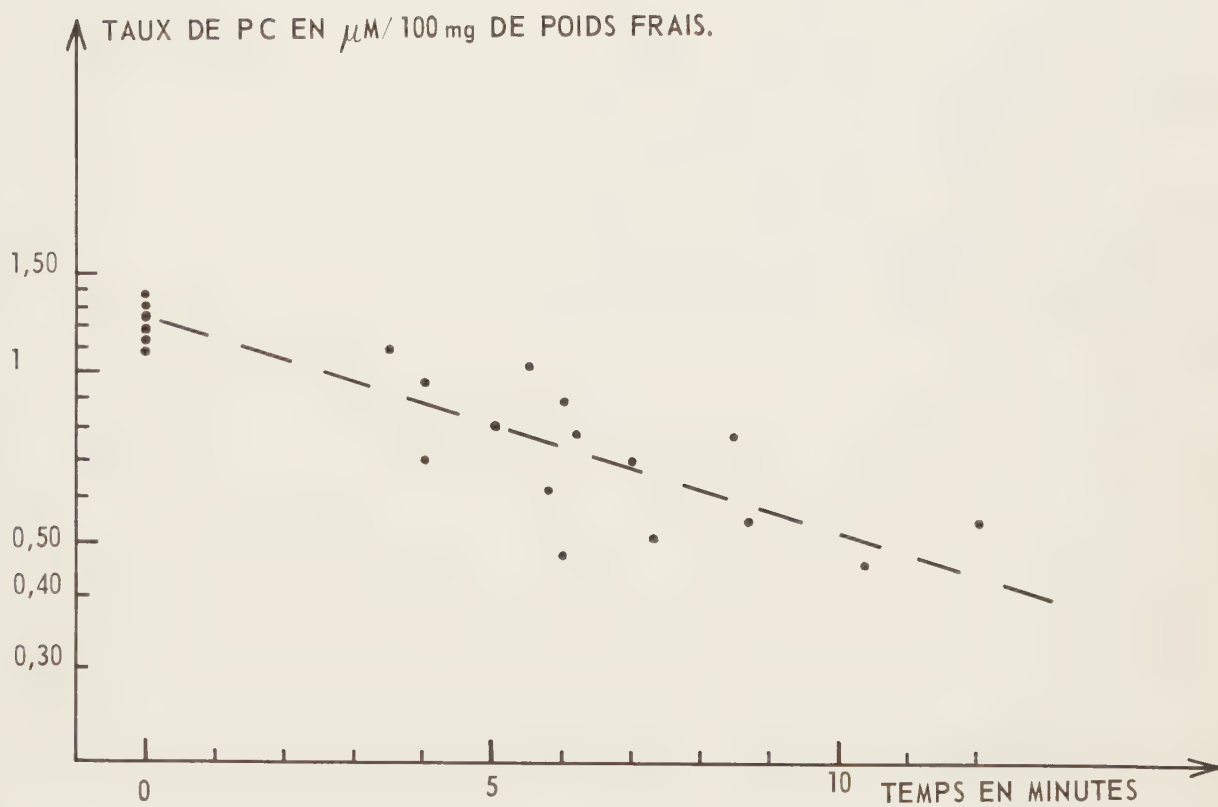


Figure V. 6 - Evolution de la teneur du myocarde en PC en fonction du temps écoulé entre l'apparition des altérations digitaliques de ST et le prélèvement.

myocarde telle qu'elle est rapportée dans la figure V3 correspond-elle à une relation du type effet-dose ? Les expériences de DUTTA et Coll. (41) nous permettent de le penser. Ces auteurs perfusent à raison de 3 ml/minute des coeurs isolés de cobayes avec de la digoxine- H^3 $10^{-7}M$. Dans les deux minutes qui suivent le début de la perfusion, le coeur s'équilibre avec le milieu de perfusion, c'est-à-dire qu'il n'y a plus de différence appréciable par dosage entre les teneurs en digoxine du perfusé afférent et du perfusé efferent. DUTTA et Coll. observent alors que la teneur en digoxine du ventricule augmente rapidement de façon pratiquement linéaire en fonction du temps pendant les 30 minutes qui suivent. Ensuite, à partir de la 32ème minute, la teneur en digoxine du tissu n'augmente plus que de façon très lente et peu significative.

Dans nos conditions expérimentales, il est vraisemblable que de la même manière, dans les 2 minutes qui suivent le début de la perfusion, il n'y ait plus de différence appréciable entre les teneurs en digoxine du sang afférent et efferent myocardique. On peut donc admettre que pendant les 30 premières minutes d'une intoxication aiguë par voie *i.v.*, telle que nous la réalisons, la teneur du ventricule en digoxine augmente linéairement en fonction du temps, donc en fonction de la durée de perfusion, donc en fonction de la dose perfusée au moment du prélèvement qui n'est que l'expression relative de la quantité de digoxine fixée par le ventricule.

CHAPITRE VI

EXAMEN DES RESULTATS

I- INTERET DE LA METHODE DE CONGELATION IN SITU -

Depuis SCHUMANN (159) qui, en 1939, imposant à des rats un séjour dans l'azote pur, montrait qu'au bout de 10 secondes d'une telle anoxie la PC était déjà effondrée dans le coeur de ces animaux, de nombreuses publications ont été faites, surtout dans les dix dernières années, concernant l'étude de l'évolution du pocl de la PC cellulaire myocardique quand la cellule est privée d'oxygène, soit par arrêt circulatoire, soit par inhalation d'un mélange gazeux appauvri en oxygène. C'est qu'en effet une telle investigation permet de savoir si la production d'énergie est toujours suffisante pour alimenter les processus qui en consomment. Mais l'extrême labilité de la PC qui en fait, comme le souligne MEDESAN (113), un si bon témoin de l'intégrité fonctionnelle du muscle, rend aussi très malaisée la détermination de sa teneur dans un organe aussi peu accessible que le coeur. L'emploi d'une préparation coeur-poumon est séduisante de prime abord car elle permet de placer le coeur dans une position idéale pour permettre une congélation instantanée. Ainsi, les résultats rapportés dans le tableau III3 a, qui concernent des publications de travaux effectués sur des coeurs isolés, montrent parfois des taux de PC supérieurs à certains résultats obtenus au cours des dosages effectués sur des prélèvements d'organe in situ (tableau III3 b). Cependant, les manipulations nécessaires à la mise en place de l'organe exposent à la survenue d'une hypoxie incontrôlée et c'est pourquoi la plupart des auteurs s'efforcent de travailler sur le coeur in situ ; mais si, dans ces conditions, on se contente d'extirper l'organe et de la projeter dans un liquide réfrigérant, ou si la voie d'abord de la biopsie n'est pas suffisante pour que soient respectées les

conditions d'une congélation in situ que nous avons déjà énoncées, alors on perd ici ce que l'on pensait gagner par rapport à l'organe isolé. Notre montage semble concilier les avantages des deux procédés et rend peut-être possible, puisque partant d'un état biochimique plus proche de la normale, de saisir certains mécanismes ou certaines corrélations qui peuvent apparaître dès le début de l'agression anoxique et qui peuvent être méconnues si l'état de référence comporte déjà le début de ces manifestations.

II- LA TENEUR EN PC DU MYOCARDE PENDANT LA PHASE D'INSTALLATION D'UNE ANOXIE ANOXIQUE HYPOCAPNIQUE -

Si de nombreuses publications concordent pour établir la notion qu'un myocarde privé d'oxygène, voit sa teneur en PC diminuer rapidement, cette notion a été souvent établie, en effectuant des dosages sur des prélèvements tissulaires, pratiqués à intervalles plus ou moins rapprochés après l'installation de la privation d'oxygène. L'aspect dynamique précis de l'évolution de la teneur en PC du tissu, au moment même où l'organe se voit brutalement privé d'oxygène, a été plus rarement mis en évidence. Ainsi, BENSON & Coll. (4), perfusant un coeur de chien avec une solution macromoléculaire désoxygénée, observent, après 45 minutes d'une telle perfusion, que la teneur de l'organe en PC est effondrée, puisqu'elle est passée de 10, 0 micromoles dans les témoins, à 1, 6 micromoles par gramme de poids frais dans les coeurs anoxiques ; de même, FURCHGOTT & de GUBAREFF (51), travaillant sur l'oreillette isolée de cobaye, avaient montré qu'après 18 minutes de perfusion avec un liquide équilibré avec de l'azote à 95 % et du CO₂ à 5 %, la teneur en PC de l'oreillette n'est plus que le 1/3 de ce qu'elle est dans les témoins perfusés avec un liquide équilibré par O₂ 95 % et CO₂ 5 %.

SWYNGHEDAUW & Coll. (167), ventilant artificiellement des lapins avec de l'azote pur, rapportent qu'après 7 à 25 minutes d'une telle ventilation, la teneur du coeur in situ en PC est passée de 3, 38 à 1, 33 μ M/g de tissu

congelé, THORN (171), de la même manière chez le lapin, montre qu'après 5 minutes le taux de PC myocardique n'est plus que le $1/5^e$ du taux témoin et qu'après 7 minutes la PC est indosable ; POOL, COVELL et Coll. (137), chez des chiens ventilés de manière analogue avec un mélange d'azote à 92 % et d'oxygène à 8 %, notent qu'une telle hypoxie entraîne, au bout de 13 minutes, une diminution de la teneur myocardique en PC qui est passée de 12, 2 à 10, 4 $\mu\text{M/g}$ de poids frais. Mais IMAI & Coll. (79), de même que BENDA & Coll. (3), une minute après arrêt de la respiration artificielle, respectivement sur le coeur in situ de lapin et de cobaye, constatent déjà une chute de la teneur en PC.

SCHEUER & STEZOSKI (157), sur le coeur de rat isolé perfusé avec un liquide équilibré avec de l'azote pur, FEINSTEIN (52) sur le coeur de cobaye in situ rendu asphyxique par écrasement de la trachée, WOLLENBERGER & KRAUSE (188) sur le coeur de chien in situ rendu ischémique par section de l'aorte ascendante, constatent, 30 secondes après l'installation de l'anoxie, de l'asphyxie ou de l'ischémie, un effondrement de la teneur tissulaire en PC. BRAASCH & Coll. (12) enfin, sur le coeur de chien in situ ventilé artificiellement et dont certains rameaux coronaires sont ligaturés, montrent que dans les territoires intéressés par la ligature, si 15 secondes après celle-ci le taux de PC est encore analogue à celui des témoins (8, 0 $\mu\text{M/g}$), il n'est plus que de 3, 49 μM au bout de 30 secondes et de 2, 4 μM 60 secondes après la ligature.

WILLIAMSON (185), utilisant un coeur de rat isolé intoxiqué par l'oxyde de carbone, décrit avec précision en la suivant presque seconde par seconde l'évolution de la teneur de l'organe en PC. C'est ce que nous avons essayé de réaliser sur le coeur in situ soumis à une anoxie anoxique hypocapnique brutale quelque peu voisine de celle qui peut survenir dans un aéronef évoluant au-dessus de 12 000 m. et présentant une panne brutale de l'alimentation en oxygène. La courbe de l'évolution de la teneur en PC du myocarde en fonction de la durée de l'anoxie présentée dans la figure IV₁ est tout à fait analogue à celle rapportée par WILLIAMSON et concernant l'évolution de cette teneur en fonction de la durée d'une intoxication oxycarbonée. Il n'en est pas

de même en ce qui concerne l'évolution de la teneur en ATP, sans doute parce que dans le coeur in situ les taux de départ sont plus proches des taux physiologiques. Par ailleurs, nous avons essayé de couvrir par un "nuage" de points la zone qui nous paraissait particulièrement intéressante à explorer, c'est-à-dire celle où s'effondre la PC ; ceci nous a permis de mettre en évidence la grande susceptibilité individuelle des animaux, certains voyant leur teneur en PC s'effondrer immédiatement après le début de l'épreuve anoxique, d'autres conservant encore après 20 secondes d'hyperventilation forcée avec de l'azote pur une teneur en PC encore comparable à la teneur moyenne des animaux témoins. Cette observation nous a été précieuse quand on a retrouvé le même phénomène dans l'évolution de l'E.C.G. en fonction de l'anoxie. Cependant, cette variabilité individuelle s'inscrit dans certaines limites. Quarante à cinquante secondes après le début de l'anoxie (Cf. figure IV₁), on peut affirmer que chez tous les animaux, la teneur en PC du myocarde est effondrée, ce qui correspond assez bien aux notions de temps de survie utile en anoxie fulminante survenant au-dessus de 12 000 m.

Comme le fait remarquer WILLIAMSON (185), l'étude de la teneur en ν P du myocarde au cours de l'anoxie ou de l'ischémie est le plus souvent effectuée de telle manière que les dosages sont pratiqués sur des prélèvements réalisés au moment où est déjà installé le nouvel état stationnaire correspondant au métabolisme anaérobie et la période de transition entre état aérobie et état anaérobie est négligée. Un deuxième aspect de ce type d'étude que nous avons déjà souligné, c'est qu'il est important que la teneur en ν P des préparations témoins puisse être tenue pour proche de sa valeur en normoxie. Ainsi, en 1959, MICHAL & Coll. (116) laissent écouler une période de 3 minutes entre l'ouverture du thorax chez le chien anesthésié non ventilé et l'inactivation des enzymes, dans le prélèvement, par homogénéisation dans l'acide trichloracétique. A l'issue d'une nouvelle période de 30 minutes, la teneur en PC et en ATP est de nouveau déterminée. Dans ces conditions, ces auteurs observent qu'au cours de l'anoxie, la teneur en PC diminue moins vite que la teneur en ATP.

Au contraire, à la même époque, THORN & Coll. (173), sur le lapin dont le coeur est rapidement extirpé et projeté dans l'azote liquide, montrent qu'après 5 minutes de ventilation avec N₂ à 95 % et CO₂ à 5 %, la teneur en PC

est passée de 5 à 1 alors que celle en ATP n'a diminué que de moins de 50 %. Toutes les études ultérieures confirmeront l'observation des auteurs allemands : en 1961 BENSON & Coll. (4), en 1962 FEINSTEIN (52), en 1963 WOLLENBERGER & KRAUSE (188), en 1964 IMAI & Coll. (79), en 1965 BENDA & Coll. (3), en 1966 POOL & Coll. (137), ainsi que WILLIAMSON (185), en 1967 COVELL & Coll (35), en 1968 BRAASCH & Coll. (12), ainsi que SWYNGHEDAUW & Coll.(167), en 1968 et en 1969 SCHEUER & STEZOSKI (157 et 158). Cependant, soit parce que les dosages ont été pratiqués trop tardivement après l'installation de l'anoxie, soit parce que la teneur en PC dans les témoins est déjà si faible qu'elle témoigne d'une souffrance hypoxique de la préparation, soit parce que la méthode de congélation in situ en couche mince n'a pas été réalisée, nous n'avons pas retrouvé dans la littérature d'observation rapportant une augmentation transitoire de la teneur en ATP du myocarde au cours de la phase d'installation de l'anoxie. Cette augmentation précoce du taux d'ATP myocardique est à rapprocher de "l'overshooting" décrit par WILLIAMSON (185) des teneurs en P-enolpyruvate et en Fructose 1-6 di P survenant sur le coeur de rat isolé 40 secondes après le début d'une intoxication oxycarbonée, alors que la teneur en PC est déjà effondrée et que la teneur en ATP est considérablement diminuée. Notre observation est aussi à rapprocher des résultats obtenus par LISTER et Coll. (104) sur le muscle strié squelettique de porcs. Dans les muscles d'une race de porcs sensibles au stress, les réserves en PC sont plus faibles que dans ceux d'une race de porcs résistants au stress ; pourtant, les muscles des deux races contiennent autant de créatine (151), mais le muscle de porc sensible au stress est incapable de phosphoryler autant de créatine que celui de porc résistant. Sous l'effet de l'anoxie, la teneur en PC du muscle s'effondre donc beaucoup plus vite chez le porc sensible que chez l'animal résistant. Or, chez les animaux sensibles au stress qui ont pourtant des teneurs en ATP identiques aux animaux résistants, LISTER & Coll. observent un effondrement rapide et brutal de la teneur en ATP sous l'effet de l'anoxie alors que les porcs résistants voient leur teneur en ATP se maintenir en plateau avant de commencer à chuter.

III- LA TENEUR DU MYOCARDE EN $\sim$ P PENDANT LA PHASE D'INSTALLATION D'UNE INTOXICATION DIGITALIQUE -

L'hypothèse selon laquelle les digitaliques exercent leur effet inotrope par l'intermédiaire d'une augmentation de la teneur tissulaire en $\sim$ P est séduisante (LEONARD & HAJDU (102). Malheureusement, une augmentation, sous l'influence des digitaliques, de la teneur du myocarde en phosphorylcréatine par exemple n'a jamais pu être mise en évidence, FEINSTEIN (52) faisant remarquer à juste titre que les quelques travaux dans lesquels un tel effet a été observé sont discutables du fait des techniques employées qui font qu'en particulier les teneurs en PC des témoins sont par trop inférieures aux valeurs qui peuvent être considérées actuellement comme proches de la normale.

L'effet que nous avons observé d'une diminution exponentielle de la teneur du coeur en PC sous l'influence d'une intoxication aiguë par la digoxine, cet effet semblant débiter avec les premiers signes de souffrance électrocardiographique, est à rapprocher des résultats publiés en 1967 par ARESE, BOSIA & ROSSINI (1) qui ont constaté sur le coeur de grenouille que 50 secondes après l'injection d'ouabaïne dans la veine cave inférieure, la teneur en PC du coeur diminue et ceci au moment où apparaissent les premiers signes d'arythmie.

Il semble que les échecs répétés, rappelés notamment en 1965 par BING (7), en 1967 par WOLLENBERGER (187), en 1969 par SCHATZMANN (153) pour mettre en évidence un quelconque effet favorable des digitaliques sur la teneur en ATP du myocarde, aient entraîné un abandon délibéré de cette voie de recherche pendant ces dernières années. D'autant que ce qui compte réellement comme le souligne FEINSTEIN (52) ce n'est pas tant la quantité d'ATP présente à un instant donné dans la cellule que sa répartition et surtout la vitesse avec laquelle l'ATP est respectivement fourni et consommé au niveau des processus intra-cellulaires qui transforment l'énergie chimique de la $\sim$ P en énergie mécanique. Néanmoins, la mise en évidence, sous l'effet d'une perfusion intra-veineuse de digoxine, d'un abaissement de la teneur en PC du myocarde, cet abaissement allant de pair avec une augmentation de la teneur en ATP, n'est pas sans intérêt, car elle objective un effet du digitalique sur la répartition des $\sim$ P de la cellule, celles-ci passant d'un état de réserve à court terme

(molécule de phosphorylcréatine) à un état d'utilisation potentielle instantanée pour les phénomènes mécaniques (molécule d'ATP), mécanisme évidemment d'une inertie très faible puisque ne faisant intervenir que la seule étape enzymatique de la créatine-kinase.

Cette augmentation de la teneur en ATP du cœur au cours d'une perfusion i.v. de digoxine peut-elle rendre compte à elle seule, dans nos conditions expérimentales, de l'effet inotrope du digitalique ? Il ne semble pas. En effet, chez certains cobayes digitalisés (cobayes N° 10, 14, 17 et 19 du tableau V₁) qui présentent des teneurs en PC abaissées et des taux d'ATP élevés, il existe des troubles d'intoxication digitalique grave sous forme de rythmes ectopiques ventriculaires plus ou moins anarchiques. C'est au moment où du point de vue biochimique l'effet observé sur la répartition des $\sim P$ semble maximum et bénéfique que l'intoxication est déjà avancée au niveau de l'organe. Il y a donc une dissociation entre l'action apparemment favorable du digitalique sur le pool énergétique cellulaire et son effet sur l'excitabilité cardiaque. Ainsi, bien que nous n'ayons pas effectué de mesures de la force ventriculaire, nous pensons que l'effet inotrope était déjà présent chez les animaux digitalisés pour lesquels les teneurs en PC et en ATP restaient comparables à celles des témoins.

Au moment où la PC diminue et où l'ATP augmente, assiste-t-on à un renforcement de l'effet inotrope ? Nous ne pouvons répondre formellement à cette question, néanmoins, il est possible que le mécanisme d'action du digitalique se décompose en plusieurs phases : une première phase ayant un point d'impact Ca^{++} (LEE 101, SCHATZMANN 153), une deuxième phase ultime dont le point d'impact serait la mobilisation des réserves énergétiques de la PC et qui se manifesterait pour des doses supérieures dépassant nettement les doses thérapeutiques.

Le brutal déséquilibre de la réaction de LOHMANN, observé au début de l'anoxie et lors d'un surdosage en digitalique, apparaîtrait comme une réaction biochimique cellulaire de l'organe, soumis à une agression brutale survenant avant toute possibilité de mise en jeu de processus régulateurs appartenant à l'organisme entier ou après dépassement des possibilités de ces processus.

IV- ADRENALINE ET LIAISONS PHOSPHATES RICHES EN ENERGIE - EFFETS DE LA RESERPINE -

Utilisant des préparations de muscle papillaire prélevé sur le ventricule de chat, CHANDLER, SONNENBLICK & POOL (27) ont montré, sur de telles préparations traitées par l'acide iodoacétique et soumises à une anaérobiose stricte, que l'augmentation de la contractilité déterminée par la noradrénaline résulte d'une augmentation de l'énergie chimique libérée par le pool de $\sim P$ représenté par les quantités de PC et d'ATP présentes dans la préparation considérée. Compte tenu de ces résultats, dans une perspective sans doute finaliste, l'apparition sous l'effet de l'adrénaline d'un transfert accéléré des $\sim P$ de la PC vers l'ATP apparaît comme un résultat cohérent et favorable. Mais la mise en évidence dans les secondes qui suivent une injection i.v. d'adrénaline d'une augmentation de la teneur du myocarde en ATP survenant parallèlement à la chute de sa teneur en PC, selon une loi qui semble être la même que lors de l'anoxie ou que lors d'une intoxication par la digoxine semble apporter un bon support au concept qui fait jouer à l'adrénaline un rôle dans l'effet inotrope des digitaliques (TANZ 169) et dans l'effet inotroperecontré pendant la phase initiale de l'anoxie ou de l'ischémie (WOLLENBERGER & Coll. 189).

Du fait de la préparation expérimentale (découpage du volet sternal, dilacération du péricarde, basculement du coeur sur son pédicule et section concomitante des vagues), le système adrénergique de l'animal a déjà été vraisemblablement largement sollicité avant la mise en oeuvre de l'épreuve anoxique. Compte tenu de la rapidité avec laquelle se produit l'hydrolyse de la PC sous l'influence de l'anoxie et compte tenu de l'importance (Cf. tableau V₂) des doses d'adrénaline qu'il a fallu injecter par voie intra-veineuse pour faire apparaître une hydrolyse comparable, nous pensons que si l'effet observé en anoxie est catécholamine-dépendant, il correspond à la libération des catécholamines endogènes. D'ailleurs, SWYNGHEDAUW & Coll. (168), sur le lapin surrénalectomisé soumis à une anoxie par ventilation artificielle avec de l'azote pur, constatent que l'effet de l'anoxie sur le stock d'ATP et de PC du myocarde est amoindri

mais non pas annulé et, d'autre part, POOL & Coll. (137), chez le chien ayant subi une surrénalectomie bilatérale et un traitement à l'hexaméthonium, observent néanmoins une augmentation initiale du débit ventriculaire gauche sous l'influence d'une hypoxie réalisée par ventilation artificielle avec N_2 92 % et O_2 8 %. C'est pourquoi, nous avons voulu vérifier si, sur le cobaye dont le stock de catécholamines endogènes est réduit par une réserpination préalable (VON EULER 49), l'augmentation de la teneur en ATP peut encore être observée dans le coeur anoxique.

Deux cobayes Hartley mâles ont reçu (Cf. tableau VI₁) SERPASIL Ciba sensiblement 2 mg/Kg intrapéritonéal en deux fois, respectivement 24 h. et 6h. avant le prélèvement. A la suite de la première injection i.p., le cobaye reste apathique et larmoyant dans sa cage et refuse de s'alimenter. Au moment du prélèvement, on constate l'existence d'une bradycardie. Les teneurs en PC et en ATP observées dans les deux prélèvements sont les suivantes :

PC = 1, 34 et 1, 215 μ M/100 mg de poids congelé
 ATP = 0, 52 et 0, 48 μ M/100 mg de poids congelé

donc la teneur en composés phosphorylés ne semble pas avoir été modifiée, dans le coeur, par la réserpinisation préalable, ce qui correspond aux résultats de HILLIARD & Coll. (72) et est en accord avec l'observation rapportée par TANZ (169) que des coeurs de chat isolés perfusés et qui ont été prélevés sur des animaux réserpinés ne sont pas différents, du point de vue de leur capacité contractile, de coeurs provenant d'animaux non traités.

Quatre cobayes ayant subi une réserpinisation (Cf. tableau VI₁) ont été soumis à une épreuve anoxique. Il semble bien, notamment si on considère l'expérience correspondant au cobaye N° 3, lequel a, en outre, subi une réserpinisation particulièrement importante, très voisine de celle recommandée par SCHEUER & STEZOSKI (157), que le brutal déséquilibre de la réaction de LOHMANN, observé au début de l'anoxie, ne soit pas imputable exclusivement à la libération de noradrénaline endogène. En effet, la comparaison de la distribution expérimentale des résultats des expériences réalisées avec l'adrénaline,

ANIMAUX		RESERPINE		ANOXIE	PC	ATP
N°	Poids (g.)	Dose injectée i.p. en mg/Kg		Durée (Sec.)	en μ M/100 mg de poids frais	en μ M/100 mg de poids frais
	Age (sem.)	24 h. avant	6 h. avant			
		:prélèvement:	:prélèvement:			
1	600 g	1, 25	1, 05	néant	1, 215	0, 48
	13 s					
2	900 g	1, 40	0, 60	néant	1, 34	0, 52
	29 s					
3	560 g	2, 10	1, 90	14	0, 895	0, 595
	13 s					
4	650 g	1, 90	1, 10	20	1, 10	0, 535
	15 s					
5	900 g	1, 40	0, 60	26	1, 04	0, 425
	29 s					
6	500 g	néant	1, 20	36	0, 095	0, 385
	11 s					

TABLEAU VI₁ - Résultats des dosages pratiqués sur des prélèvements provenant de cobayes préalablement traités avec réserpine i.p.

avec celle des résultats correspondants aux expériences en anoxie (figure V₂) rend difficile l'exclusion totale d'une intervention des catécholamines endogènes au début de l'agression anoxique. D'autant plus que, contrairement à ce que nous avons observé avec la digoxine, les modifications importantes des répartitions respectives des teneurs en PC et en ATP entraînées par l'adrénaline ne s'accompagnent pas de troubles notables de l'excitabilité, ce qui présente le phénomène déterminé par l'adrénaline sous un jour plus "physiologique" que celui entraîné par des doses toxiques de digitaliques.

V- LA LIAISON ENTRE TENEUR EN PC DU MYOCARDE ET ASPECT LÉSIONNEL DE ST -

Dans le chapitre III, nous avons vu que deux lots d'animaux ventilés avec l'air ambiant, les uns (1^o lot) à l'aide d'un appareil au débit insuffisant, les autres (2^o lot) à l'aide d'un appareil convenable, présentaient, dans le coeur, des teneurs en PC différentes. L'E.C.G. de ces animaux, considéré au moment du prélèvement, montre la présence chez ceux du premier lot d'un aspect lésionnel de ST, son absence chez ceux du deuxième lot. Dans les expériences en anoxie rapportées dans le chapitre IV, nous sommes partis d'animaux ayant un tracé E.C.G., avant la mise en oeuvre de la ventilation avec l'azote pur, analogue à celui des animaux du deuxième lot. Sous l'influence de l'anoxie, l'E.C.G. évolue vers un aspect comparable, au moment du prélèvement, à celui des animaux du premier lot (Cf. figure VI₁).

La relation $y = \log c = -kx + c_0$ permet, dans nos conditions expérimentales, si on connaît le moment où est apparu le sus ou le sous décalage de ST, de prévoir l'importance de la chute de la teneur en PC du myocarde, x étant l'intervalle de temps écoulé entre le moment où apparaissent, sur l'E.C.G., les altérations lésionnelles de ST et le moment où est effectué le prélèvement. x peut-il être aussi considéré comme l'expression de la taille croissante du courant de lésion, observé sur une dérivation périphérique standard

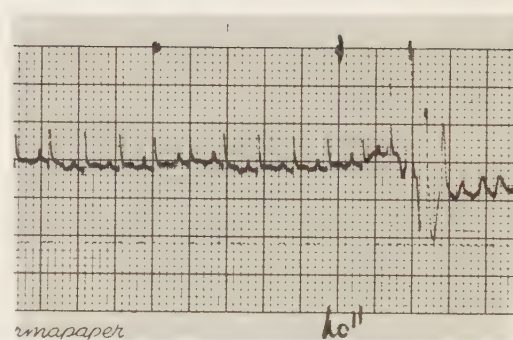
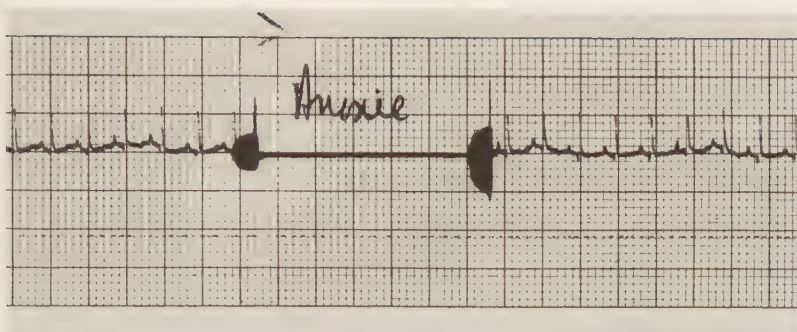


Figure VI.1 - E.C.G. (D1, 25mm/s) d'un cobaye respectivement après la manœuvre de basculement (2 minutes), tout de suite après le début de l'épreuve anoxique, enfin au moment du prélèvement qui s'inscrit dans le décours de la 27^{ème} seconde qui suit le début de l'anoxie.

Teneur en PC : 0,74 μ M/100mg de poids frais.



de l'E.C.G., en fonction de la gravité de l'anoxie ? En d'autres termes, peut-on prévoir, d'après l'importance du courant de lésion, la teneur en PC du myocarde ? La réponse à cette question est négative. Il est, en effet, constant de rencontrer, en anoxie comme durant l'intoxication digitalique, des aspects lésionnels importants avec une faible diminution de la teneur en PC et vice versa. Ainsi, dans la figure VI₁, on peut remarquer la modestie du sus décalage observé lors du prélèvement comparé à celui rapporté dans le tracé supérieur de la figure V₅. Or, les teneurs respectives en PC des deux animaux sont 0,74 μ M pour l'animal de la figure VI₁ et 1,10 pour celui de la figure V₅ (animal N° 9 du tableau V₁). Certes, nous n'avons étudié qu'une seule dérivation à la fois et peut-être que l'exploration simultanée de plusieurs dérivations nous aurait fourni des renseignements d'ordre quantitatif ; mais, compte tenu de l'agression anoxique brutale et appliquée massivement à l'ensemble du coeur qui est réalisée dans nos expériences, nous pensons que les trois dérivations périphériques ont, à priori, la même valeur exploratoire, et nous avons systématiquement choisi pour chaque préparation la dérivation permettant de recueillir les différences de potentiel de plus grande amplitude. C'est pourquoi, compte tenu du manque de finesse de l'E.C.G. par rapport à d'autres techniques électrophysiologiques, nous ne nous sommes pas hasardés dans la description millimétrée des sus ou des sous décalages observés. Il faut souligner enfin que dans le cas de l'intoxication digitalique, nous n'avons pris en considération que l'aspect franchement lésionnel du tracé et non pas l'aspect "cupule digitalique" (Cf. tracé de l'animal N° 2 de la figure V₅).

CHAPITRE VII

COMMENTAIRES

Le ventricule représentant une unité fonctionnelle, à son niveau les phénomènes intimement liés au fonctionnement cellulaire peuvent apparaître à l'échelle de l'organe, c'est pourquoi nous rappellerons d'abord des notions de physiologie cellulaire pour essayer ensuite de préciser la place et la portée de nos résultats dans le cadre des connaissances acquises.

I- LE CONCEPT EXCITATION-COUPLAGÉ-CONTRACTION -

Comme le décrit si bien DORRA (38), chaque battement cardiaque représente une pièce jouée en trois actes : excitation, couplage et contraction, chacun de ces actes étant joué dans trois décors : la membrane, le réticulum sarcoplasmique et la myofibrille.

On admet classiquement (PEACHEY 133) et nous nous contenterons de résumer les notions magistralement développées par MOMMAERTS (120) dans une revue récente sur la contraction musculaire, que celle-ci résulte de l'interaction des filaments de myosine et d'actine à l'intérieur d'une unité contractile, le sarcomère. L'interaction entre l'actine et la myosine représente le point clé où l'énergie chimique contenue dans la $\sim P$ de l'ATP est convertie en énergie mécanique. Relevant le défi lancé en 1950 par HILL (70) aux biochimistes, CAIN, INFANTE & DAVIES (16, 17 et 36) ont démontré, grâce à l'utilisation du 1 fluoro 2-4 dinitrobenzène, inhibiteur de l'ATP : créatine phosphotransférase, que c'est exclusivement l'énergie chimique de la $\sim P$ de l'ATP qui est utilisée pour la création des ponts actomyosiniques et que cette $\sim P$ de l'ATP est resynthétisée rapidement aux dépens de la PC par la réaction de LOHMANN. Une série de remarquables travaux où s'illustrèrent notamment MOMMAERTS & Coll., CARLSON & SIGER, et qui sont rappelés dans l'important ouvrage de MARECHAL (109), ont permis d'établir un bilan satisfaisant entre l'énergie chimique libérée par la réaction de LOHMANN et l'énergie fournie par le muscle de batracien dans toutes les modalités de sa contraction. Ces travaux effectués en se plaçant dans des conditions interdisant toute possibilité de synthèse de la PC (anaérobiose et traitement par l'acide monoiodoacétique), en évitant la fatigue musculaire accentuée où l'ADP ne peut plus être phosphorylé par la PC et où entre alors en jeu la réaction myokinase et en utilisant des procédés de congélation instantanés, ont permis, d'autre part, de confirmer le rôle de réserve énergétique exclusive à court terme de la PC dans le muscle strié de batracien. Nos résultats semblent montrer que, de la même façon que dans le muscle squelettique de batracien se contractant en anaérobiose, la mise

en jeu de la réaction de LOHMANN, dans le coeur de cobaye in situ soumis à une agression anoxique, est bien le phénomène princeps de la réaction cardiaque.

Les travaux récents de POOL & Coll. (135, 136 et 138), démontrant que l'utilisation des ADP de l'ATP et de la PC par le muscle papillaire isolé de coeur de chat peut être directement corrélée avec son activité mécanique, conduisent à admettre que dans le myocarde de mammifère, dont l'organisme est rendu anoxique par ventilation forcée avec de l'azote pur, il existe une relation logiquement équivalente entre l'efficacité mécanique de l'organe et sa teneur en ADP , définie par sa teneur en PC et en ATP, ce que confirme notre observation de l'apparition de la défaillance cardiaque au moment où, la PC étant effondrée, la teneur tissulaire en ATP atteint un niveau inférieur à son niveau normoxique. Cependant, POOL & Coll. (137), sur le coeur de chien in situ, SWYNGHEDAUW & Coll. (167), sur le coeur de lapin in situ, ne retrouvent pas de relation entre l'apparition de la défaillance cardiaque hypoxique et une quelconque variation de la teneur tissulaire en PC. Mais, comme le fait remarquer OLSON (132 b), dans les expériences de POOL & Coll., les prélèvements réalisés avec un "bonerongeur" n'intéressaient que la surface du muscle cardiaque, zone la moins sensible aux modifications biochimiques anoxiques. Quant aux auteurs français, ils utilisent une pince congelante en acier dont la conductivité thermique laisse à désirer, surtout si l'on tient compte de l'épaisseur du prélèvement effectué (1 à 2 cm) (165). Il est possible aussi que cette discordance tienne à une différence entre les espèces étudiées. WOLLENBERGER & Coll. (189) soulignent, en effet, qu'à la différence du chien, du lapin et du rat, l'anoxie et l'ischémie ne provoquent pas chez le cobaye de libération de catécholamines cardiaques et ne stimulent pas la phosphorylase b kinase et que chez le cobaye, comme chez la race de souris dépourvue de phosphorylase b kinase, les maîtres-mots de la régulation du fonctionnement cardiaque sont les modifications des teneurs en nucléotides riches en énergie et celles, qui leur sont liées, de la teneur en orthophosphate.

La contraction, phénomène mécanique myofibrillaire, est déclenchée par l'excitation, phénomène électrique membranaire. Les cellules ventriculaires, qui ne sont pas des cellules "pace-maker", présentent au repos, i.e. pendant la diastole, une différence de potentiel stable entre les deux faces externe et

interne de leur membrane. L'excitation correspond à une chute brutale et même à une inversion de ce potentiel de repos de la membrane cellulaire et de ses invaginations intra-cellulaires, les tubules transversaux (système T). Comme dans tous les tissus excitables (HODGKIN & HÜXLEY 74), l'existence (110) et les variations de ces différences de potentiel transmembranaires sont liées à l'existence et aux modifications de gradients de concentrations ioniques transmembranaires essentiellement sodiques et potassiques. Mais, à la suite du "spike", dû à une entrée rapide de Na^+ dans la cellule, le potentiel d'action de la cellule myocardique se caractérise par une phase ultérieure de dépolarisation maintenue ou de repolarisation ralentie, due à la persistance d'une entrée lente de Na^+ associée à une entrée de Ca^{++} comme l'ont démontré CORABOEUF & VASSORT (33 et 34).

Pour que l'excitation, acte initial du battement cardiaque, déclenche la contraction qui en est l'acte final, il est nécessaire que se joue l'acte intermédiaire du couplage. C'est au niveau de la triade de PORTER & PALADE que le processus excitatoire est transmis du tubule T aux citernes longitudinales du réticulum sarcoplasmique qui libèrent Ca^{++} acteur majeur du déclenchement de la contraction myofibrillaire : Ca^{++} se lie à la troponine et lève ainsi l'empêchement que celle-ci exerce sur l'interaction actomyosinique (EBASHI cité par SONNENBLICK & STAM 162). La relaxation des myofibrilles est liée au pompage du Ca^{++} contre un énorme gradient de concentration par les citernes longitudinales du réticulum sarcoplasmique.

WOLLENBERGER (187) souligne qu'en ce qui concerne les fibres musculaires squelettiques, épaisses et à contraction rapide, on peut admettre le rôle presque exclusif du réticulum sarcoplasmique dans l'induction de la contraction myofibrillaire par la libération du Ca^{++} et dans la relaxation par le recaptage du Ca^{++} . Quant aux fibres cardiaques, plus fines et à contraction plus lente, elles présentent un réseau longitudinal moins riche que les fibres squelettiques (FAWCEY & Mc NUTT 51) avec, par contre, une grande abondance de mitochondries

(30 à 50 % de la masse extra-nucléaire de la cellule de myocarde de mammifère). Celles-ci, capables d'emmagasiner des quantités importantes de Ca^{++} , sont, dans le coeur, des acteurs importants de la régulation des mouvements intra-cellulaires du calcium (DHALLA 37). Enfin, dans le coeur, le Ca^{++} qui entre dans la cellule pendant le plateau du potentiel d'action (34) joue, concurremment au Ca^{++} libéré par le réticulum, un rôle important dans le déclenchement de la contraction myofibrillaire et ceci est un caractère tout à fait spécifique du myocarde qui, à la différence du muscle squelettique, est incapable de se contracter dans un milieu dépourvu de Ca^{++} .

II- POTENTIELS CELLULAIRES ET E.C.G.

L'ensemble des manifestations électriques cellulaires donne naissance dans le ventricule, unité fonctionnelle, à un phénomène électrique global qui est enregistré par l'électrocardiographe. On sait que la phase de repolarisation ralentie, ou plateau du potentiel d'action de la cellule ventriculaire de mammifère, correspond au segment ST de l'E.C.G. et représente, comme le souligne CORABOEUF (31 et 32), la phase du potentiel d'action la plus dépendante du métabolisme cellulaire et la plus sensible à l'anoxie. SWYNGHEDAUW & Coll. (167) retrouvent de même que dans l'anoxie aiguë myocardique provoquée par inhalation d'azote chez le lapin, les seules modifications des potentiels d'action qui paraissent être en corrélation avec les taux d'ATP et de PC sont celles des phases 2 et 3, ce qui confirme la signification métabolique de ces dernières. WALLON (176) observe, chez le cobaye, que l'anoxie réalisée par ventilation avec de l'azote pur entraîne l'apparition de potentiels caractéristiques de l'anoxie de manière beaucoup plus rapide que si on arrête la respiration assistée, cette observation est peut-être

à rapprocher du fait que, dans nos conditions d'anoxie par ventilation avec de l'azote pur, la PC semble s'effondrer plus rapidement que dans les conditions d'asphyxie réalisée par écrasement de la trachée dans les expériences de FEINSTEIN (52).

Le complexe QRST de l'E.C.G. n'est que l'enregistrement de la résultante de l'ensemble des potentiels d'action ventriculaire, il est donc concevable que le segment ST soit l'élément de l'E.C.G. dont les variations traduisent des modifications du métabolisme cellulaire. CASE & Coll. (24) ont montré que l'apparition d'un décalage de ce segment est intimement lié à la transition aérobie-anaérobie du métabolisme myocardique tandis que SCHEUER & BRACHFELD (156) insistent sur le fait que l'apparition de modifications du segment ST implique un sévère degré d'ischémie dont l'effondrement de la PC pourrait être le témoin. Cependant, SCHEUER & STEZOSKI (157), sur le coeur isolé perfusé de rat, observent au cours de l'anoxie que les modifications du segment ST de l'E.C.G. apparaissent plus tard que les modifications des teneurs en composés phosphorés riches en énergie. Mais, d'une part, ces auteurs remarquent eux-mêmes que les teneurs en vP de leur organe isolé sont plus faibles que les teneurs obtenues in vivo et ceci est particulièrement net pour la PC, d'autre part, le repérage du niveau isoélectrique de référence dans les tracés rapportés par ces auteurs nous paraît matière à discussion, or, comme le soulignent PRINZMETAL & Coll. (143), c'est là le fondement de toute recherche sur la signification des déviations de ST par rapport au niveau de référence. Quoi qu'il en soit, il faut bien reconnaître avec RICHARD & Coll. (148) que les facteurs responsables du décalage ischémique de ST sont encore imparfaitement connus. La mise en évidence, dans nos conditions expérimentales, d'anoxie anoxique appliquée brutalement à l'animal réputé normoxique d'une liaison entre l'effondrement de PC et l'apparition des altérations lésionnelles de ST peut éventuellement être interprétée dans le cadre de la notion du transport ionique actif qui implique notamment le transfert de l'énergie d'hydrolyse de l'ATP au sodium (HYMAN 78).

III- TRANSPORT IONIQUE ACTIF ET $\sim P$ -

Les études aux traceurs radioactifs ont montré qu'il existe un échange constant de tous les ions à travers la membrane cellulaire, même au repos, ce qui crée un équilibre dynamique ou plutôt un déséquilibre dynamique (BRINER & Coll. 13) des concentrations ioniques de part et d'autre de la membrane. Avec CALDWELL (18) et KEYNES (89), deux types de mouvements ioniques peuvent être décrits à travers les systèmes membranaires cellulaires : les uns passifs, qui suivent les gradients de concentration transmembranaires, les autres actifs, qui vont contre les gradients, notamment quand il s'agit, après la phase active d'excitation-couplage-contraction, de restaurer les déséquilibres ioniques caractéristiques de l'état de repos.

C'est d'abord dans l'axone géant de calmar que l'intervention du métabolisme, et notamment des $\sim P$ dans le pompage actif du sodium depuis l'intérieur de la cellule vers le milieu extérieur, a été démontrée. Après que HODGKIN & KEYNES (75), SHANES & BERMAN (160) aient montré respectivement que les inhibiteurs métaboliques et l'anoxie réduisent dans l'axone géant l'extrusion du sodium radioactif, CALDWELL & Coll. (19) mirent en évidence une étroite corrélation entre la capacité de l'axone d'expulser du Na^+ et sa teneur en composés phosphorés riches en énergie : ATP et Argininephosphate qui est, chez les invertébrés (THOAI & ROCHE 170) l'équivalent de la phosphorylcréatine chez les vertébrés. L'injection d'ATP ou d'Argininephosphate à l'intérieur d'axones géants empoisonnés par le cyanure entraîne une restauration transitoire des capacités d'extrusion sodique par la cellule, CALDWELL & Coll. (20), DE WEER (178) confirmant que l'Argininephosphate agit en rétablissant une teneur élevée de l'axone géant en ATP par le biais de la réaction catalysée par l'ATP : Argininephosphotransférase.

GREENGARD & STRAUB (66) et (67), dont les résultats ont été confirmés par CHMOULIOVSKY & MONTANT (29), ont observé que chez le lapin l'hyperpolarisation qui suit l'activité répétitive de fibres nerveuses est associée à une chute de la PC et de l'ATP dans le nerf. Les inhibiteurs métaboliques qui empêchent la formation d'ATP diminuent ou abolissent cette hyperpolarisation.

HAAS & Coll. (68), sur l'oreillette isolée de grenouille intoxiquée par le dinitrophénol, observent, parallèlement à une hydrolyse complète de la PC et à une diminution de la teneur en ATP de l'organe, que ses capacités pour capter du K^+ et pour extraire du Na^+ diminuent ; tandis que DYDYNKA & HARRIS (42), sur le muscle sartorius de grenouille, montrent, grâce à l'action du 1-fluoro, 2-4 dinitrobenzène, que si le mouvement de sortie du Na^+ et d'entrée du K^+ s'accompagne d'une hydrolyse de la PC, c'est en fait la γ -P de l'ATP qui intervient directement, comme le suggéraient déjà les expériences de MELLO (115) où l'ATP s'avérait capable de restaurer l'activité électrique de cellules cardiaques de lapin soumises à l'action du dinitrophénol. On peut supposer que le même mécanisme entre en jeu, quand WEBER & Coll. (177) rapportent que les capacités du réticulum sarcoplasmique pour accumuler du Ca^{++} en présence d'ATP, sont augmentées si on ajoute au milieu de la PC et de l'ATP : créatinephosphotransférase, ou quand ELISON & Coll. (47) montrent que la captation *in vitro* du calcium par les fibres musculaires extraites au glycérol nécessite la présence d'ATP et qu'elle est augmentée en présence de phosphorylcréatine.

Certes, ces mouvements ioniques consomment peu d'énergie par rapport aux phénomènes mécaniques, encore que l'énergie d'activation du muscle papillaire ventriculaire de chat représente quelque 17 % de l'énergie dépensée pendant le travail (134). Mais, à la différence du muscle strié, chez qui la restauration des gradients ioniques, après une période de tétanisation, peut s'étaler sur plusieurs minutes après l'arrêt de la stimulation, le déséquilibre continuant d'ailleurs à s'aggraver pendant la période de repos si le muscle est privé

d'oxygène (GILLIS 64), le coeur, unité fonctionnelle, doit, à l'issue de chaque battement assurer cette restauration. Que survienne, par exemple, une brusque accélération du rythme, alors, comme l'a montré LANGER (100), le système de la pompe ionique est pris de court par le raccourcissement diastolique et un gain sodique cellulaire apparaît associé à une perte potassique. Rapidement, les concentrations ioniques intra-cellulaires retrouvent des niveaux normaux, grâce à la mise en oeuvre de mouvements ioniques actifs, dont la consommation d'énergie, brusquement cumulée dans quelques intervalles diastoliques raccourcis, n'est peut-être plus du tout négligeable par rapport à l'énergie totale dépensée pendant un cycle cardiaque. Ne peut-on évoquer un tel mécanisme dans le cas d'une agression anoxique brutale ?

Dans la relation (Cf. page 49) :

$$\log c = -0,044 \cdot x + \log c'.$$

le calcul de c' nous conduit à une valeur de 1,14 μM de PC pour 100 mg de poids frais. Cette valeur est extérieure (vers le bas) à l'intervalle de confiance, pris avec un coefficient de sécurité de 99 %, de la moyenne de la teneur en PC de nos animaux normoxiques qui est de 1,225 μM (dont intervalle de confiance = 1,155 à 1,295 μM). D'après ces résultats, le décalage de ST semblerait donc n'apparaître en fait que tout de suite après le début de l'agression anoxique cellulaire dont nous savons que la baisse de la teneur en PC est le meilleur témoin.

L'accélération cardiaque initiale due à l'anoxie (174), qui devrait apparaître d'autant plus facilement que nos animaux ont subi une vagotomie cervicale bilatérale, s'accompagnerait d'une certaine perturbation des bilans ioniques cellulaires du fait de l'inertie du mécanisme de pompage. Mais, à la différence de ce qui se passe dans les expériences de LANGER (100) de brutale accélération cardiaque, l'anoxie, comme dans le cas du muscle squelettique (64), ne permettrait pas la correction rapide de ces perturbations ioniques

par la mobilisation ultérieure de νP supplémentaires; le retard de la pompe à sodium deviendrait énorme et les perturbations des plateaux des potentiels d'action apparaîtraient visibles sur l'E.C.G., sous forme de décalage de ST par rapport au niveau de référence.

Malheureusement, dans nos conditions expérimentales, nous n'avons pu mettre en évidence une différence significative entre le rythme cardiaque observé après la manoeuvre de basculement, avant l'anoxie, et celui observé au moment où apparaissent, après le début de l'anoxie, les premiers signes d'altération lésionnelle de ST.

Le retard de la pompe à apporter une correction aux perturbations ioniques relativement légères entraînées chez le chien par une accélération du rythme de 80 à 120 /mn (LANGER) n'est-il pas aussi la traduction de la dépendance des mécanismes de transport actif des ions vis à vis de l'équilibre $PC \rightleftharpoons ATP$? L'augmentation de la force contractile du myocarde, concomitante de la brusque accélération du rythme (effet BOWDITCH), entraîne une augmentation de la consommation des νP de l'ATP, d'où vraisemblablement une légère baisse transitoire de la teneur en PC puisqu'il semble bien que le pool de PC n'est en équilibre enzymatique qu'avec une fraction dite fonctionnelle de l'ATP cellulaire. Ainsi est retrouvée la notion, sur laquelle insistent CALDWELL, HODGKIN, KEYNES & SHAW (20), de l'importance d'une teneur élevée en phosphagènes pour assurer le bon fonctionnement des échanges ioniques, en particulier le couplage du captage potassique à l'extrusion sodique. Que la chute de la PC devienne suffisamment importante et les perturbations ioniques prendraient une traduction électrocardiographiques. D'ailleurs, que ce soit dans l'axone de céphalopodes (20) dans l'oreillette (68), ou le muscle sartorius (42) de grenouille, ou dans l'organe électrique d'*Electrophorus electricus* contraint à des décharges répétées (WILLIAMSON & Coll. 186), c'est toujours la diminution de la teneur en PC qui apparaît comme le phénomène le plus précoce et le plus marqué accompagnant les perturbations des échanges ioniques même si l'utilisation du 1-fluoro, 2-4 dinitrobenzène (42) montre que c'est en fait la νP de l'ATP qui est directement utilisée

par le mécanisme de pompage.

Quant à l'importance soulignée par DE WEER (178) d'un rapport $\frac{ATP}{ADP}$ élevé pour assurer le bon fonctionnement de la pompe ionique, elle ne peut être retenue comme explication dans le cas de l'épreuve anoxique puisque la baisse initiale de la teneur en PC s'accompagne d'une élévation de la teneur en ATP selon la réaction :



qui a donc tendance à élever le rapport $\frac{ATP}{ADP}$. Par contre, l'hydrolyse de la PC, pendant la phase où elle est contemporaine d'un accroissement global de la teneur tissulaire en ATP, entraîne certainement une augmentation du pH intra-cellulaire par apparition de créatine libre (DUBUISSON (40) et thèse de DISTECHE citée par MOMMAERTS (120)). Cette alcalinisation cellulaire joue peut-être aussi un rôle dans le déséquilibre des mouvements ioniques du plateau du potentiel d'action qui est à l'origine de l'altération lésionnelle de ST observée sur l'E.C.G.

IV- DIGOXINE ET MOUVEMENT IONIQUE -

Depuis la découverte en 1956 par SKOU (161) d'une ATPase membranaire dont l'activité exige, pour se manifester, la présence à la fois du Na^+ et du K^+ , ce qui la distingue des nombreuses ATPases connues, l'existence de cette $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ a été reconnue dans le myocarde de cobaye (PORTIUS et REPKE 140) et pratiquement dans tous les tissus "où on a bien voulu la chercher", comme l'écrivent KATZ & EPSTEIN (87) dans la revue récente qu'ils ont consacrée à ce sujet. L'enzyme n'est absente que des tissus ayant une faible activité cellulaire comme le tissu graisseux par exemple. En 1953, SCHATZMANN (152), ouvrant un nouveau chapitre dans l'histoire des digitaliques, met en évidence leur effet inhibiteur sur le transport actif du Na^+ et du K^+ dans les érythrocytes ; il précise que cet effet s'exerce sur le mécanisme du transport et non pas en abaissant la quantité d'énergie nécessaire à celui-ci. Cet effet a été retrouvé dans de nombreux tissus, y compris le muscle cardiaque de mammifères. Le fait que la $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ est aussi fortement et spécifiquement inhibée par les digitaliques que l'est le mouvement actif du Na^+ et du K^+ dans les tissus d'où la préparation enzymatique considérée est extraite, a été, comme le rappelle WOLLENBERGER (187), un argument important pour regarder l'ATP, comme la source d'énergie du transport ionique actif en même temps qu'un élément pouvant contribuer à éclaircir le mécanisme d'action des digitaliques.

Dans sa communication présentée lors de la réunion de la Société Allemande de Pharmacologie à DUSSELDORF, en Septembre 1968, SCHATZMANN (153) rappelle d'emblée trois notions essentielles. La première c'est l'impuissance des recherches menées jusqu'à ce jour tendant à montrer que les digitaliques améliorent la quantité d'énergie i.e. de P mise à la disposition de la cellule ; la deuxième c'est qu'ils n'ont aucune action sur les protéines contractiles ; la troisième,

enfin, c'est que la présence de Ca^{++} dans le milieu extra-cellulaire est une condition sine qua non de l'action des digitaliques sur le myocarde. Aussi les pharmacologistes pensent, actuellement, que le point d'impact des digitaliques se situe au niveau du mécanisme du couplage entre l'excitation et la contraction. L'action inotrope positive des digitaliques suppose une augmentation de la concentration intra-cellulaire en Ca^{++} au niveau des myofibrilles, le nombre d'ions Ca^{++} disponibles pour se lier à la troponine déterminant le niveau de contractilité (KATZ 84). L'augmentation du nombre d'ions Ca^{++} liés au myofibrilles serait la conséquence du ralentissement du pompage sodique actif qui entraîne une accumulation de Na^+ au niveau des sites membranaires de fixation pour lesquels existe une compétition entre Na^+ et Ca^{++} (LANGER 100), ce qui se traduit, notamment, par une augmentation de la fraction du Ca^{++} tissulaire facilement échangeable (KLAUS 92) et de l'entrée du Ca^{++} dans la cellule (BAKER & Coll. 2).

L'inhibition que la digoxine exerce sur l'ATPase membranaire en se liant à la forme phosphorylée de l'enzyme (MATSUI & SCHWARTZ 111) entraîne, à côté d'un gain cellulaire en Na^+ , une perte de K^+ . Celle-ci ne peut expliquer le mécanisme de l'effet inotrope (153), puisque la diphénylhydantoïne, par exemple, permet de les dissocier (SCHERLAG & Coll. 154) ; il n'en demeure pas moins, comme l'ont montré REPKE & PORTIUS (146), qu'elle est toujours concomitante de l'action des digitaliques. Dans nos conditions expérimentales manifestement quand apparaissent sur l'E.C.G. les altérations de ST, l'animal a reçu des doses pour lesquelles tous les auteurs (23 et 187) sont d'accord pour admettre qu'elles entraînent une perturbation des mouvements Na^+ et K^+ , qui peuvent d'autant mieux rendre compte des altérations des plateaux des potentiels d'action que le gain cellulaire en Na^+ modifie certainement les courants calciques trans-membranaires (153) qui sont, dans le coeur, au moins aussi importants que les échanges calciques intra-cellulaires dans le déterminisme du

couplage excitation-contraction. Le fait que les altérations des potentiels d'action, déterminées par la digoxine, ne se traduisent par des altérations lésionnelles de ST sur l'E.C.G. qu'avec la baisse de la teneur en PC de l'organe, est un argument supplémentaire pour voir dans une teneur élevée en phosphagènes une condition importante du bon fonctionnement des mécanismes de transport ionique actif. Une teneur élevée en PC ne traduit que le fait que la mise en jeu de la réaction de LOHMANN n'est pas sollicitée, donc qu'au niveau de la fraction fonctionnelle de l'ATP cellulaire, la production de ΔP équilibre la consommation. Lorsque la digoxine vient inhiber l'ATPase membranaire, il y a un ralentissement de l'extrusion sodique qui entraîne une augmentation de la fixation de Ca^{++} dans les myofibrilles, d'où une immobilisation d'ATP supplémentaire. Ainsi, paradoxalement, l'inhibition de l'ATPase membranaire entraîne une diminution de la quantité d'ATP fonctionnel et partant une hydrolyse de la PC, ce qui peut expliquer la liaison observée entre la diminution du taux de PC et l'apparition du phénomène lésionnel sur l'E.C.G. sous l'effet de l'intoxication digitale.

V- E.C.G. ET EFFICACITE MECANIQUE DU COEUR -

On sait qu'il n'existe pas de corrélation entre l'activité électrique cardiaque, telle qu'elle est recueillie par l'électrocardiographe et l'efficacité de l'organe : le fait princeps niant l'existence d'une telle corrélation est la possibilité, bien connue des réanimateurs, d'obtenir des E.C.G. pratiquement normaux en l'absence de toute efficacité mécanique cardiaque. La mise en évidence d'une relation, dans nos conditions expérimentales, entre la teneur du coeur en PC et les manifestations lésionnelles électrocardiographiques provoquées par l'anoxie, mérite donc discussion puisque les liaisons phosphates riches en énergie représentent la source biochimique de l'énergie mise en jeu par toute contraction musculaire.

Nous avons montré que le début de l'agression anoxique tissulaire, comme celui de l'intoxication digitalique, se caractérisent par une élévation transitoire de la teneur en ATP du myocarde survenant parallèlement à la chute rapide de la teneur en PC. Dans le cas de l'anoxie, cette augmentation transitoire de la teneur en ATP est suivie d'un retour à sa valeur en normoxie, puis d'une diminution relativement lente en fonction du temps. Au moment où, pendant le décours de l'anoxie, la teneur en PC est devenue pratiquement négligeable alors que celle de l'ATP est encore voisine de 70 % de sa valeur en normoxie, on voit un coeur mou, dilaté, inefficace et paradoxalement, comme l'avaient déjà remarqué ZAO & Coll. (193), le courant de lésion diminue ou disparaît sur les tracés E.C.G., pour être remplacé par des altérations du rythme, soit troubles de l'excitabilité (tachycardie supraventriculaire), soit troubles de la conduction (blocs auriculoventriculaires) (Cf. figure VII₁). Tout semble se passer ainsi : à partir du moment où la teneur en ATP est inférieure à sa valeur normale, l'activité mécanique cellulaire devient pratiquement nulle, d'où économie considérable de $\dot{V}P$; par contre, les phénomènes

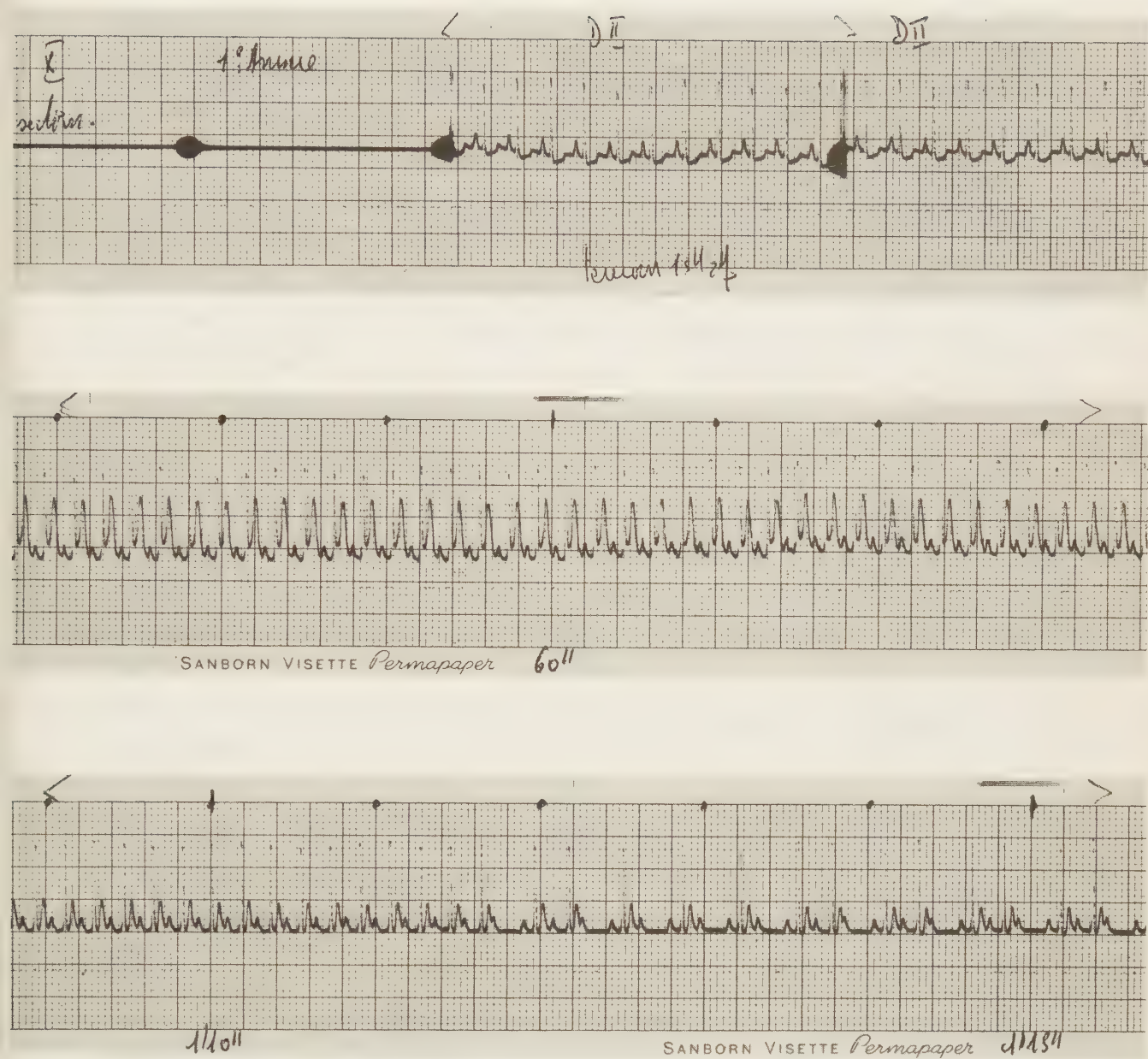


Figure VII.1 - Evolution au cours de l'anoxie de l'aspect lésionnel sur l'E.C.G. (tracé recueilli sur un cobaye non thoracotomisé). Noter sur le tracé intermédiaire, 60 secondes après le début de l'anoxie l'importance du courant de lésion qui décroît ensuite jusqu'au moment où apparaît la dissociation auriculoventriculaire dans le décours de la 72ème seconde.



électriques, au niveau cellulaire, semblent relativement s'améliorer, les altérations électrocardiographiques sortant du cadre du fonctionnement cellulaire pour entrer dans celui du fonctionnement de l'organe. Or, on sait effectivement depuis longtemps (CORABOEUF 31) que la sensibilité à l'anoxie des réponses électriques des cellules cardiaques est très différente si le coeur est en activité ou au repos. D'autre part, PRASAD & Mac LEOD (142), sur le muscle papillaire isolé de coeur de cobaye, ont observé que l'ATP résultant de la glycolyse anaérobie semble être utilisé de façon préférentielle par les processus membranaires contrôlant la repolarisation.

La notion d'évolution, aussi bien du tracé E.C.G. que de l'état des réserves cellulaires en νP , doit être soulignée. Il importe de considérer, d'abord, l'état de normoxie qui correspond à un aspect E.C.G. bien connu et à un niveau des réserves en νP peut être moins bien connu. Ensuite, il faut considérer la phase d'installation de l'état anoxique où se modifient l'aspect du tracé E.C.G. et l'état des réserves en νP et pendant cette phase, très brève, existent, semble-t-il, des liaisons électrochimiques. Remarquons d'ailleurs que nous n'avons construit la droite de regression du logarithme de la teneur en PC du myocarde sur le temps écoulé x , entre l'apparition des altérations lésionnelles de ST et le prélèvement que pour des valeurs de x comprises entre 0 et 25 secondes (Cf. figure IV₅).

Avec la poursuite de l'épreuve anoxique, les mécanismes compensateurs du métabolisme anaérobie, comme l'augmentation du transport du glucose qui peut augmenter de 10 fois dans l'anoxie (MORGAN & Coll. 124), et on sait l'importance que prend le glucose dans le métabolisme anaérobie du myocarde (WEISSLER & Coll. 180), l'accélération de la glycogénolyse et de la glycolyse anaérobie (WILLIAMSON 185, SCHEUER 155, BRAASH & Coll. 12, SWYNGHEDALW & HATT 166) permettent pendant quelques minutes un approvisionnement suffisant en νP pour rendre compte de la survie de l'organe pendant une période où la

réoxygénation peut encore entraîner la récupération pratiquement instantanée de l'efficacité mécanique. Pendant cette phase d'inefficacité mécanique cardiaque, les structures sont encore intactes, et le métabolisme anaérobie fournit encore suffisamment d'énergie pour que les mouvements ioniques des processus d'excitation se fassent normalement, ce qui est arrêté c'est le couplage excitation-contraction (KATZ 85). On peut alors concevoir que pendant cette phase un enregistrement d'une activité électrique importante du coeur soit possible, alors que le débit cardiaque est nul. Enfin, pendant la phase initiale d'hydrolyse de la PC, l'immobilisation, sous forme de liaisons actomyosiniques supplémentaires, d'une partie de l'ATP formé, suppose également la mobilisation de quantités supplémentaires d'ions bivalents dans le compartiment actomyosinique. Il y aurait donc une entrée accrue de Ca^{++} dans la cellule pendant le plateau du potentiel d'action, et ceci pourrait être une des raisons de l'observation concomitante de variations de ST avec l'hydrolyse de la PC.

VI- L'IMPORTANCE DE LA REACTION DE LOHMANN DANS LA REPONSE DU COEUR
DE COBAYE A UNE AGRESSION -

Comme le rappelle NOGUES dans sa Thèse (129), si les réactions cardio-vasculaires en réponse à la privation d'oxygène sont connues depuis longtemps, l'unanimité n'est pas faite à propos des moyens dont dispose le coeur pour augmenter son débit au début de l'anoxie, ni à propos des modalités de mise en jeu de ces moyens. A l'occasion d'un symposium international récent sur les effets cardio-vasculaires de l'hypoxie, la plupart des auteurs, HATCHER & JENNINGS (69), DOWNING (39) mettent l'accent sur la mise en jeu du système orthosympathique et de la médullo-surrénale, tandis que GOWDEY (65) leur distribue un rôle mineur.

L'accroissement du débit cardiaque induit initialement par l'hypoxie est essentiellement attribué à l'accélération cardiaque dont le point d'impact sur la mobilisation du Ca^{++} intra-cellulaire (LANGER 100) peut rendre compte de l'augmentation de la force contractile par le biais de l'activation de l'ATPase de l'actomyosine, un des effets les moins discutables du Ca^{++} . L'accroissement de l'activité ATPasique de la myosine, en entraînant une utilisation accrue de l'ATP cellulaire, est susceptible de déplacer la réaction de LOHMANN dans le sens d'une hydrolyse de la PC avec phosphorylation d'ADP. Dans nos conditions expérimentales, il n'existe pas, semble-t-il, de différence significative entre le rythme cardiaque observé après la manoeuvre de basculement, avant la mise en oeuvre de l'épreuve anoxique et celui observé, après la mise en oeuvre de celle-ci, pendant la phase où la PC diminue, l'ATP s'élève. La section des vagues et le basculement du coeur sur son pédicule, effectués entre 3 et 4 minutes avant l'épreuve anoxique, semblent avoir déjà sollicité au maximum les possibilités d'accélération du rythme cardiaque, cependant la mobilisation

des réserves énergétiques à court terme, i.e. le déplacement rapide des $\sim P$ de la PC vers l'ATP apparaît encore possible dans ces conditions. On peut penser qu'il en est de même quand JOSE & STITT (81) observent que le 2-4 dinitrophénol, administré en perfusion intra-veineuse à la dose de 0, 8 mg/Kg/min., à des chiens préalablement traités par propranolol et atropine, entraîne chez ces animaux une augmentation de la force contractile pendant les dix premières minutes de perfusion, sans que le rythme cardiaque se modifie. Or, le dinitrophénol est un découplant des phosphorylations oxydatives et place donc l'organe vis à vis de son stock de PC et d'ATP dans la même situation que lors de l'anoxie anoxique.

L'action de l'adrénaline sur la glycogénolyse par l'intermédiaire de l'AMP cyclique (150) apparaît comme un phénomène plus tardif de récupération. On sait, en effet, (MAYER 112) qu'il existe une dissociation temporelle entre l'augmentation de l'amplitude de la contraction du cœur isolé anoxique et l'augmentation de l'activité de la phosphorylase a qui survient plus tardivement. Au contraire, l'hydrolyse de la PC est constamment observée comme étant le phénomène le plus précoce, commençant avec le début de l'augmentation de la contraction, que celle-ci soit induite sur le cœur isolé par une injection d'adrénaline (WILLIAMSON 184) ou par une anoxie anoxique (MAYER 112, WILLIAMSON 185).

Dans nos conditions d'utilisation de l'adrénaline, injection intra-veineuse rapide d'une dose importante et prélèvement dans les 40 secondes qui suivent (Cf. tableau V₂), il ne semble pas que l'accélération des phosphorylations oxydatives mitochondriales soit suffisamment rapide et importante pour répondre à l'utilisation accrue d'ATP correspondant à la stimulation cardiaque, et on observe une mise en jeu immédiate de la réaction de LOHMANN. Par contre, la mobilisation des réserves en $\sim P$ de la PC ne survient, au cours de la perfusion intra-veineuse de digoxine, qu'après quelques minutes (Cf. figure V₃). L'hydrolyse de la PC apparaît alors comme la phase

ultime de réaction du myocarde, après que les phénomènes de renforcement de la contraction, liés à la mobilisation du Ca^{++} extra et intracellulaire, aient épuisé les possibilités d'accélération de la fourniture d'ATP par les mitochondries. On sait, en effet, KIEN & SHERROD (90), que l'action de la digoxine, sur l'utilisation du glucose par le myocarde, avec augmentation de la production de CO_2 provenant du glucose, et sur l'accélération du "turn-over" des intermédiaires de la glycolyse, est un phénomène très précoce, survenant avant toute modification des fonctions hémodynamiques cardiaques.

Ainsi, que ce soit lors d'une agression anoxique, adrénalinique ou digitalique, l'enzyme de LOHMANN, ou ATP : créatine phosphotransférase, apparaît comme le point d'impact de nombreux facteurs pouvant solliciter l'adaptation brutale du myocarde. Malheureusement, si de nombreuses publications ont décrit, dans le coeur, l'évolution de l'activité des enzymes de la glycolyse au cours de l'anoxie et à la suite de l'injection de diverses drogues, peu de publications s'intéressent dans ces cas à la créatine-kinase dont nous pensons cependant avoir montré l'importance dans la phase initiale de la réponse du coeur à une agression. Pourtant, la cinétique de cette enzyme a été particulièrement étudiée et, comme le souligne CLELAND (30) dans une revue récente, cette enzyme apparaît particulièrement adaptée à une rapide phosphorylation de l'ADP, même si le rapport $\frac{\text{ATP}}{\text{ADP}}$ reste élevé et si le rapport $\frac{\text{PC}}{\text{Créatine}}$ devient aussi faible que $\frac{1}{2}$. En effet, si avec MORRISON & JAMES (125) nous écrivons ainsi la réaction de LOHMANN :



nous savons (CLELAND) que la constante de vitesse de la réaction dans le sens d'une formation de Mg ATP est 10 fois plus élevée que dans le sens d'une formation de Mg ADP et que la vitesse initiale de la réaction est deux fois plus élevée dans le sens d'une phosphorylation de Mg ADP par PC que dans l'autre sens. WILLIAMSON (185) a d'ailleurs observé, dans le coeur de rat isolé rendu anoxique par intoxication oxycarbonée, que la constante d'équilibre apparente de la créatine-kinase dans le

sens d'une synthèse d'ATP varie de 7, 2 en aérobiose à 29, 9 en anoxie.

Il existe dans le muscle une corrélation positive entre les teneurs en PC et en ATP (MARECHAL 109). Cette corrélation peut s'expliquer par le fait que ces deux substrats sont en équilibre enzymatique contrôlé par l'ATP : Créatine phosphotransférase (MORRISON & WHITE 126). Cette corrélation positive rend compte, dans la figure IV₂, de la distribution expérimentale des résultats à partir du moment où la teneur en ATP, après avoir atteint un niveau maximum, commence à décroître en même temps que la PC. En ce qui concerne la distribution expérimentale des résultats observés au début de l'anoxie et sous l'influence de l'adrénaline et de la digoxine (figures V₁ et V₂), l'augmentation de la teneur en ATP observée au début de l'hydrolyse de la PC ne semble pas correspondre à cette notion de l'existence d'un équilibre enzymatique rapide et aléatoire entre PC et ATP. HILL (71) a montré que dans le muscle strié de la grenouille, la PC est essentiellement concentrée au niveau de la bande I. Si l'on admet qu'une partie importante de l'ATP cellulaire est immobilisée dans des compartiments notamment mitochondriaux et actinomyosiniques (CARLSON & SIGER 21) et que dans la réaction $PC + ADP \rightleftharpoons ATP + Créatine$, la quantité d'ATP à prendre en considération est uniquement une petite fraction fonctionnelle de la totalité de l'ATP cellulaire, alors on conçoit, d'après ce qu'on sait de la cinétique de la réaction de LOHMANN, qu'une utilisation accrue de cette fraction fonctionnelle de l'ATP puisse entraîner un déséquilibre de la réaction, ne serait-ce qu'en augmentant légèrement la quantité d'ADP présente dans le 1er membre. Si, de plus, au début du phénomène une certaine partie de l'ATP apparu dans le 2ème membre est immobilisée sous forme de liaisons supplémentaires sur les sites de fixation myosinique non hydrolytique (MOMMAERTS 120, YOUNG 192), alors la réaction n'en a que plus tendance à évoluer dans le sens d'une hydrolyse de la PC, et globalement peut apparaître une augmentation de la teneur tissulaire totale en ATP.

L'importance de cette notion, introduite par CARLSON & SIGER qu'il existe dans la cellule une compartimentation fonctionnelle de l'ATP et que du point de vue énergétique ce qui compte c'est la fraction de l'ATP en équilibre avec la PC, est soulignée, dans nos expériences, par l'observation du fait que le coeur se laisse distendre et devient inefficace mécaniquement dès que, la teneur en PC étant devenue négligeable, la teneur en ATP devient inférieure à sa valeur en normoxie. KLARWEIN & Coll. (91), étudiant le métabolisme du ventricule de coeur de chien rendu ischémique par une fibrillation induite artificiellement par un choc électrique, observent que la quantité d'énergie qui est nécessaire à la mécanique de la fibrillation est couverte essentiellement par la PC. Pendant les six premières minutes de la fibrillation, le contenu du myocarde en PC s'effondre depuis la valeur de 760 micromoles/100 g, jusqu'à une valeur nulle ; pendant ce temps, l'ATP ne varie que de la valeur 490 à la valeur 390 micromoles/100 g. Or, après épuisement du contenu myocardique en PC, c'est-à-dire au bout de six minutes de fibrillation, l'activité mécanique liée à la fibrillation s'effondre alors qu'à ce moment là la teneur du myocarde en ATP est encore de 390 micromoles/100 g. Or, on sait (40 et 120) que la phase d'hydrolyse de la PC correspond à une période d'alcalinisation intra-cellulaire par apparition de créatine libre. Par contre, elle est immédiatement suivie d'une phase de diminution du pH intra-cellulaire dont GELET & Coll. (63) viennent encore récemment de souligner l'importance dans l'apparition de la dégradation des performances mécaniques du coeur anoxique. La cause pourrait en être l'affinité plus grande de la troponine pour ion H^+ que pour l'ion Ca^{++} (KATZ 84, KATZ & HECHT 88). Quoi qu'il en soit, cette notion que, dans la cellule, le pool de PC en équilibre enzymatique avec la fraction fonctionnelle de l'ATP représente la quantité d'énergie chimique pouvant être transformée en énergie mécanique, expliquerait l'inefficacité de l'adrénaline pour renforcer la contraction cardiaque d'un coeur soumis à une hypoxie prolongée (GOWDEY 65) et la divergence des résultats concernant la mise en jeu des processus de régulation

dans la réponse du coeur à une agression hypoxique. Selon les conditions expérimentales des auteurs, si les possibilités d'accélération des oxydations phosphorylantes dans la mitochondrie sont nulles, suivant que la quantité de PC dans la préparation reste ou non suffisante pour permettre une sollicitation efficace ou non de la réaction de LOHMANN, la réaction du coeur sera différente. Le fait qu'une réoxygénation brutale (FEINSTEIN 52) n'entraîne pas, parallèlement au retour de l'efficacité cardiaque, un rétablissement aussi rapide de la teneur en PC et de celle en ATP, s'explique par le fait que ce qui compte bien évidemment c'est la vitesse avec laquelle la fraction fonctionnelle de l'ATP est utilisée et renouvelée. La mise en jeu de la réaction de LOHMANN n'est sollicitée que si les conditions sont telles que les possibilités d'approvisionnement en ATP fonctionnel par la chaîne des cytochromes sont dépassées.

CONCLUSIONS

Une technique de congélation tissulaire in situ a permis de déterminer la teneur en composés phosphorés riches en énergie dans le myocarde de cobaye. Celle-ci se caractérise en normoxie par des valeurs élevées en phosphorylcréatine (1, 225 micromoles/100 mg de poids de tissu congelé) et des valeurs plus faibles en ATP (0, 465 micromoles/100 mg de poids de tissu congelé).

En anoxie, où l'évolution de la teneur en $\sim P$ de l'organe est le reflet de l'utilisation de l'énergie par la cellule, il est mis en évidence que la mise en jeu de la réaction de LOHMANN, qui se traduit par une élévation transitoire de la teneur de l'organe en ATP, est l'élément princeps de la réponse du coeur. Le brutal déséquilibre de la réaction de LOHMANN dans le sens d'une hydrolyse de la PC avec phosphorylation de l'ADP en ATP s'observe non seulement au début de l'anoxie mais sous l'effet d'une injection intra-veineuse d'adrénaline et au début de l'intoxication digitalique.

Pendant la phase initiale de l'anoxie où la teneur en PC diminue de façon exponentielle en fonction du temps, il existe une relation entre l'évolution de la teneur en PC et les délais d'apparition du courant de lésion sur l'électrocardiogramme.

L'évolution relative des taux des substrats riches en énergie de la réaction de LOHMANN, PC d'une part, ATP d'autre part, correspond à la notion de l'existence d'une compartimentation de l'ATP dans la cellule myocardique. Elle met, d'autre part, en évidence que le pool de PC en équilibre enzymatique avec le pool fonctionnel d'ATP représentent exclusivement la réserve d'énergie chimique susceptible d'être transformée par la pompe cardiaque en travail mécanique efficace utilisable pour la propulsion sanguine.

- BIBLIOGRAPHIE -

- 1 - ARESE P., BOSIA A., ROSSINI L.
Short-term effects of ouabain on energy-rich, glycolytic and citric-acid-cycle intermediates in frog heart.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 1967, 27, 138-142.
- 2 - BAKER P.F., BLAUSTEIN J.P., HODGKIN A.L., STEINHARDT R.A.
The effect of sodium concentration on calcium movements in giant axons of *Loligo forbesi*.
J. Physiol. (London), 1967, 191, 43P-44P.
- 3 - BENDA L., DOMEFF D., ECCER K.
Untersuchungen über den Myokardstoffwechsel des Meerschweinchens während Sauerstoffmangels und Wiederbeatmung.
Der Anaesthesist, 1965, 14, 169-172.
- 4 - BENSON B.S., EVANS G.T., HALLAWAY D.E., PHIBBS C., FREIER E.F.
Myocardial creatine phosphate and nucleotides in anoxic cardiac arrest and recovery.
Am. J. Physiol., 1964, 201, 687-693.
- 5 - BERGHOFF W.
Die Bedeutung eines unterschiedlichen Gehaltes an Glykogen und ATP für den anaeroben Stoffwechsel des künstlich stillgestellten Herzens.
Thèse médecine, 1964, 1966.
- 6 - BERGMAYER H.U.
Methods of enzymatic analysis.
Academic Press, New-York, 1963, (1064 p.).
- 7 - BING R.J.
Cardiac metabolism.
Physiol. Rev., 1965, 45, 171-213.
- 8 - BOERTH R.C., COVELL J.W., SEAGREN C.C., POOL P.E.
High-energy phosphate concentrations in dog myocardium during stress.
Am. J. Physiol., 1969, 216, 1103-1106.

9 - BORREDON P.

Tracé électrocardiographique et taux de phosphorylcréatine myocardique au cours de l'anoxie aiguë.

C.R. Acad. Sc., Paris, 1967, 265 (2), 2066-2069.

10 - BORREDON P.

Variations des taux de phosphorylcréatine et d'acide adénosine triphosphorique dans le coeur in situ au cours de l'anoxie et apparition du phénomène de lésion sur l'électrocardiogramme.

J. Physiol., (Paris), 1969, 51, 51-63.

11 - BORCOOK H., DUBNOFF J.W.

The hydrolysis of phosphocreatine and the origin of urinary creatinine.

J. Biol. Chem., 1947, 168, 493-510.

12 - ERAASCH W., GUDBJARNASON S., PURI P.S., RAVENS K.G., BING R.J.

Early changes in energy metabolism in the myocardium following acute coronary artery occlusion in anesthetized dogs.

Circulation Res., 1968, 23, 429-438.

13 - BRINER G.P., SIMON S.E., FRATER R., TASKER P.

A comparison of ion shifts with adenosine triphosphate and creatine phosphate levels in muscle.

Biochim. Biophys. Acta, 1959, 35, 485-495.

14 - BROEKHUYSEN J., LARUEL R., DEBRUCK-LARUEL A., DELTOUR G.

Influence de l'Amiodarone sur les réserves énergétiques du myocarde chez le rat.

Biochem. Pharmac., 1967, 16, 2069-2075.

15 - BUSCH B.W., GERCKEN G.

Abbau von Purinnucleotiden und Kohlenhydraten im KCl-stillgestellten Kaninchen- und ischämischen Hundeherzen.

Z. Physiol. Chem., 1969, 350, 105-110.

16 - CAIN D.F., DAVIES R.E.

Breakdown of adenosine triphosphate during a single contraction of working muscle.

Biochem. Biophys. Res. Comm., 1962, 8, 331-336.

- 17 - CAIN D.F., INFANTE A.A., DAVIES R.E.
Chemistry of muscle contraction. Adenosine triphosphate and phosphorylcreatine as energy supplies for single contractions of working muscle.
Nature, (London), 1962, 196, 214-217.
- 18 - CALDWELL P.C.
Factors governing movement and distribution of inorganic ions in nerve and muscle.
Physiol. Rev., 1968, 48, 1-64.
- 19 - CALDWELL P.C., HODGKIN A.L., KEYNES R.D., SHAW T.I.
The effects of injecting "energy rich" phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of Loligo.
J. Physiol., (London), 1960, 152, 561-590.
- 20 - CALDWELL P.C., HODGKIN A.L., KEYNES R.D., SHAW T.I.
The rate of formation and turnover of phosphorus compounds in squid giant axons.
J. Physiol., (London), 1964, 171, 119-131.
- 21 - CARLSON F.D., SIGER A.
The mechano-chemistry of muscular contraction. I the isometric twitch.
J. Gen. Physiol., 1960, 44, 33-60.
- 22 - CARTIER P., LEROUX J.P., TEMKINE H.
Techniques de dosages des intermédiaires de la glycolyse dans les tissus.
Ann. Biol. Clin., 1967, 25, 791-813.
- 23 - CASE R.B.
Effect of low pO_2 on left ventricular function. pp 191-207 in HATCHER J.D., JENNINGS D.B. ed.,
Proceedings of the international symposium on the cardiovascular and respiratory effects of hypoxia, Karger, Basel, 1966, (407 p).
- 24 - CASE R.B., ROSELLE H.A., CRAMPTON R.S.
Relation of S-T depression to metabolic and hemodynamic events
Cardiologia, 1966, 48, 32-41.

25 - CASTEN G.G.

The effect of the aging process on acid soluble phosphorus compounds in the myocardium of rats.

Am. Heart J., 1950, 39, 553-560.

26 - CHALLONER D.R., STEINBERG D.

Oxidative metabolism of myocardium as influenced by fatty acids and epinephrine.

Am. J. Physiol., 1966, 211, 897-902.

27 - CHANDLER B.M., SONNENBLICK E.H., POOL P.E.

Mechanochemistry of cardiac muscle. III effects of norepinephrine on the utilization of high-energy phosphates.

Circulation Res., 1963, 22, 733-735.

28 - CHIDSEY C.A., WEINBACH E.C., POOL P.E., MORROW A.G.

Biochemical studies of energy production in the failing human heart.

J. Clin. Invest., 1966, 45, 40-50.

29 - CHMOULIOVSKY M., MONTANT P.

Coût énergétique de l'activité électrique dans le nerf vague du lapin.

Helv. Physiol. Pharmacol. Acta, 1967, 25, CR 164-CR 165.

30 - CLELAND W.W.

Enzyme kinetics.

Ann. Rev. Biochem., 1967, 36, 77-112.

31 - CORABOEUF E.

Aspects cellulaires de l'électrogénèse cardiaque chez les vertébrés.

J. Physiol., (Paris), 1960, 52, 323-417.

32 - CORABOEUF E.

Propriétés du muscle cardiaque - activité électrique élémentaire des tissus cardiaques.

pp 310-331, in KAYSER C., Physiologie tome III - Les grandes fonctions, Flammarion Paris, 1963 (1210 p).

- 33 - CORABOEUF E., VASSORT G.

Effets de la tétrodotoxine, du tétraéthylammonium et du manganèse sur l'activité du myocarde de rat et de cobaye.

C.R. Acad. Sc., Paris, 1967, 264 (D), 1072-1075.

- 34 - CORABOEUF E., VASSORT G.

Effects of some inhibitors of ionic permeabilities on ventricular action potential and contraction of rat and guinea-pig hearts.

J. Electrocardiology, 1968, 1, 19-30.

- 35 - COVELL J.W., POOL P.E., BRAUNWALD E.

Effects of acutely induced ischemic heart failure on myocardial high-energy phosphate stores.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1967, 124, 126-131.

- 36 - DAVIES R.E.

Adenosinetriphosphate breakdown during single muscle contractions.

Proc. Roy. Soc. London, 1964, B-160, 480-485.

- 37 - DHALLA N.S.

Excitation-contraction coupling in heart I comparison of calcium uptake by the sarcoplasmic reticulum and mitochondria of the rat heart.

Arch. Internat. Physiol. Bioch., 1968, 77, 916-934.

- 38 - DORRA M.

Physiopathologie myocardique : le bloc excitation contraction.

La Presse Médicale, 1968, 76, (N° 42) 2007-2012
et, (N° 43) 2053-2058

- 39 - DOWNING S.E.

Autonomic influences on cardiac function in systemic hypoxia.

pp. 208-231, in HATCHER J.D., JENNINGS D.B., ed., Proc. int. Symp. cardiovasc. respir. Effects Hypoxia, Karger, Basel, 1966, (407 p).

- 40 - DUBUISSON M.

Studies on the chemical changes processes which occur in muscle before, during and after contraction.

J. Physiol., (London), 1939, 94, 461-482.

- 41 - DUTTA S., GOSWAMI S., LINDOWER J.U., MARKS B.H.
Subcellular distribution of digoxin- H^3 in isolated guinea-pig and rat hearts.
J. Pharmacol. exp. Therap., 1968, 159, 324-334.
- 42 - DYDYNKA M., HARRIS E.V.
Consumption of high energy phosphates during active sodium and potassium interchange in frog muscle.
J. Physiol., (London), 1966, 182, 99-109.
- 43 - EDMAN C.D., SILVERS N.P., GANGLOFF E.C., KRAUSE R.F.
Creatine, creatinephosphate and creatinine levels in hypoxia hypertrophied rat hearts.
Am. J. Physiol., 1963, 204, 1005-1007.
- 44 - EGGLETON P., EGGLETON G.P.
The inorganic phosphate and a labile form of the organic phosphate in the gastrocnemius of the frog.
Biochem. J., 1927, 21, 190-195.
- 45 - EKESTRÖM S., PALEUS S., ÅBERG T.
Biochemische und physiologische Studien an anoxischen Hundeherzen mit extracorporaler Zirkulation mit und ohne Zuführung von Persantin /2,6 bis (diaethanolamino)- 4,8-dipiperidino-pyrimido-(5,4-d) pyrimidin/
Cardiologia, 1965, 46, 281-294.
- 46 - ELGRISHI I., DUCIMETIERE P., RICHARD J.L., GELIN J.
L'analyse de l'électrocardiogramme en épidémiologie.
Path. Biol., 1969, 17, 175-189.
- 47 - ELISON C., FAIRHURST A.S., HOWELL J.N., JENDEN D.J.
Calcium uptake in glycerol extracted Rabbit Psoas Muscle Fibers.
J. Cell. Comp. Physiol. 1965, 65, 133-140.
- 48 - ERANKO O.
Quenching of tissues for freeze-drying.
Acta anat., (Basel), 1954, 22, 331-336.

49 - EULER U.S. von

Observations on distribution, uptake and release of catecholamines in the heart.

pp 100-117, in MARCHETTI G., TACCARDI E., ed., Coronary Circulation and energetics of the myocardium, Karger, Basel, 1967 (320 p.).

50 - FATTORUSSO V., RITTER O.

Atlas d'électrocardiographie.

Masson, Paris, 1962 (328 p.).

51 - FAWCET D.W., McNUTT N.C.

The ultrastructure of the cat myocardium I Ventricular papillary muscle.

J. Cell. Biol., 1968, 42, 1-67.

52 - FEINSTEIN M.E.

Effects of experimental congestive heart failure, ouabain and asphyxia on the high-energy phosphate and creatine content of the guinea-pig heart.

Circulation Res., 1962, 10, 333-346.

53 - FISKE C.H., SUBBAROW Y.

The nature of the "inorganic phosphate" in voluntary muscle.

Science, 1927, 55, 401-403.

54 - FISKE C.H., SUBBAROW Y.

Phosphocreatine.

J. Biol. Chem., 1929, 21, 629-679.

55 - FLECKENSTEIN A., DÖRING H.J., KAMMERMEIER H.

Experimental heart failure due to inhibition of utilisation of high energy phosphates.

pp. 220-236, in MARCHETTI G., TACCARDI E., ed., Coronary Circulation and Energetics of the Myocardium. Karger, Basel, 1967 (320 p.).

56 - FLECKENSTEIN A., JANKE J., GERLACH E., DEUTICKE B.

Konzentration und Turnover der energiereichen Phosphate des Herzens nach Studien mit Papierchromatographie und Radiophosphor.

Klin. Wschr., 1959, 37, 451-459.

- 57 - FLORKIN M., SCHOFFENIELS E.

La mitochondrie.

pp. 295-351, in Biochimie et Biologie Moléculaire. Desoer, 1967, (578 p.).

- 58 - FOX A.C., WIKLER N.S., REED G.E.

High energy phosphate compounds in the myocardium during experimental congestive heart failure. Purine and pyrimidine nucleotides, creatine and creatinephosphate in normal and in failing hearts.

J. Clin. Invest., 1965, 44, 202-218, (56 réf.).

- 59 - FULLE F., ISALBERTE L.

Studio elettrocardiografico dell' asfissia sperimentale. L'occlusione della trachea esteriorizzata, in condizioni di integrità vagale e dopo vagotomia.

Folia Medica (Napoli), 1965, 48, 1314-1334.

- 60 - FURCHGOTT R.F., de GUBARBEFF T.

The determination of inorganic phosphate and creatine phosphate in tissue extracts.

J. Biol. Chem. 1956, 223, 377-388.

- 61 - FURCHGOTT R.F., de GUBARBEFF T.

The high energy phosphate content of cardiac muscle under various experimental conditions which alter contractile strength.

J. Pharmacol. exp. Ther., 1958, 104, 203-218.

- 62 - GARBULINSKI T., DEBOWY J., LOJ W., BUBIEN Z.

ATP i fosforokreatyna serca w adrenalinemii po wagotomii.

Acta Physiologica Polonica, 1968, 19, 83-88.

- 63 - GELET T.R., ALTSCHULD R.A., WEISSLER A.M.

Effects of acidosis on the performance and metabolism of the anoxic heart.

Circulation, 1969, 40, IV-60-IV-73.

- 64 - GILLIS J.M.

Les déplacements ioniques dans le muscle strié isolé après tétanisation répétée.

Arch. internat. Physiol. Bioch., 1964, 72, 124-153.

- 65 - GOWDEY C.W.
The autonomic nervous system in hypoxia.
pp 232-247, in HATCHER J.D., JENNINGS D. B. ed., Proc. int. Symp. cardiovasc. respir. Effects Hypoxia, Karger, Basel, 1966.
- 66 - GREENGARD P., STRAUB R.W.
Effect of frequency of electrical stimulation on the concentration of intermediary metabolites in mammalian non-myelinated fibres.
J. Physiol., (London), 1959, 148, 353-361.
- 67 - GREENGARD P., STRAUB R.W.
Metabolic studies on the hyperpolarization following activity in mammalian non-myelinated fibres.
J. Physiol., (London), 1962, 161, 414-423.
- 68 - HAAS H.G., HANTOCH F., OTTER H.P., SIEGEL G.
Untersuchungen zum Problem des aktiven K- und Na-Transports am Myokard.
Pflügers Arch., 1967, 294, 144-168.
- 69 - HATCHER J.D., JENNINGS D.B.
Evidence for the role of humoral mechanisms in the cardiovascular responses to hypoxia and anaemia.
pp 174-190, in HATCHER J.D., JENNINGS D.B., ed., Proc. int. Symp. cardiovasc. respir. Effects Hypoxia, Karger, Basel, 1966 (407 p).
- 70 - HILL A.V.
A challenge to biochemists.
Biochim. Biophys. Acta, 1950, 4, 4-11.
- 71 - HILL D.K.
The location of creatine phosphate in frog's striated muscle.
J. Physiol., (London), 1960, 126, 31-50.
- 72 - HILLIARD W.G., OLIVER W.T., VAN PETTEN G.R.
The influence of sympathomimetic amines, monoamineoxidase inhibitors and antihypertensives upon the energy metabolism in the rat heart.
Can. J. Physiol. Pharmacol., 1966, 44, 605-613.

- 73 - HOCHREIN H., DÖRING H.J.

Die energiereichen Phosphate des Myokards bei Variation der Belastungsbedingungen
Pflügers Arch., 1960, 271, 543-568.

- 74 - HODGKIN A.L., HUXLEY A.F.

Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of Loligo.

J. Physiol., (London), 1952, 116, 449-472.

- 75 - HODGKIN A.L., KEYNES R.D.

Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo.

J. Physiol., (London), 1955, 108, 28-60.

- 76 - HÖRST H.J.

Enzymatische Bestimmung von L (+)-Milchsäure.

Biochem. Z., 1957, 308, 509-521.

- 77 - HORECKER E.L., KORNBERG A.

The extinction coefficients of the reduced band of pyridine nucleotides.

J. Biol. Chem., 1948, 175, 335-339.

- 78 - HYMAN E.S.

Transfer of metabolic energy to sodium.

Nature, (London), 1966, 211, 836-837.

- 79 - IMAI S., RILEY A.L., BERNE R.M.

Effect of ischemia on adenine nucleotides in cardiac and skeletal muscle.

Circulation Res., 1964, 15, 443-450.

- 80 - JENNINGS R.B., SOMMERS H.M., KALTENBACH J.P., WEST J.J.

Electrolyte alterations in acute myocardial ischemic injury.

Circulation Res., 1964, 14, 260-269.

- 81 - JOSE A.D., STITT F.

Effects of hypoxia and metabolic inhibitors on the intrinsic heart rate and myocardial contractility in dogs.

Circulation Res., 1969, 25, 53-66.

82 - KAKO K.

Biochemical changes of the rat myocardium induced by isoproterenol.

Can. J. Physiol. Pharmacol., 1965, 43, 541-549.

83 - KAKO K., ITO Y.

The effect of an intraventricular balloon upon the chemical composition of isolated perfused rabbit heart.

Can. J. Physiol. Pharmacol., 1967, 45, 177-181.

84 - KATZ A.I.

Research on acute myocardial infarction.

Circulation, 1969, 40, IV-70 - IV-71.

85 - KATZ A.M.

Effects of interrupted coronary flow upon myocardial metabolism and contractility.

Progr. Cardiovasc. Dis., 1968, 10, 450-465.

86 - KATZ A.M.

Patterns of energy production and energy utilization in cardiac and skeletal muscle.

pp. 401-415 in Factors influencing myocardial contractility, TANZ R.D., KAVALER F., ROBERTS J., éd., Academic Press, New-York, 1967, (693 p.).

87 - KATZ A.I., EPSTEIN F.H.

The physiological role of sodium-potassium activated adenosine triphosphatase in the active transport of cations across biological membranes.

Israel J. Med. Sci., 1967, 3, 155-166.

88 - KATZ A.M., NECHT E.M.

The early "pump" failure of the ischemic heart.

Am. J. Medicine, 1969, 47, 497-502.

89 - KEYNES R.D.

Energy transformation in the generation of bioelectricity in CHANCE B., ESTABROOK R.W., WILLIAMSON J.R., éd., Control of energy metabolism.

Academic Press, New-York, 1965.

- 90 - KIEN G.A., SHERROD T.R.

The effect of digoxin on the intermediary metabolism of the heart as measured by glucose-C 14 utilization in the intact dog.

Circulation Res., 1960, 8, 188-198.

- 91 - KLARWEIN M. , LAMPRECHT W., LOHMANN E.

Der Stoffwechsel des Herzens bei experimentellem Kammerflimmern
Untersuchungen über den Herzstoffwechsel.

Z. Physiol. Chem., 1962, 328, 41-51.

- 92 - KLAUS W.

Comments on the role of cellular calcium in digitalis action.
pp. 533-540, in TANZ R.D., KAVALER F., ROBERTO J. éd.

Factors influencing myocardial contractility, Academic Press,
New-York, 1967, (693 p.).

- 93 - KRAUSE E.G., WOLLENEERGER A.

Prä- und postnatale Veränderungen des Gehalts des Hundeherzens
an einigen säurelöslichen Phosphorverbindungen und Kreatin
und ihre Beziehungen zu wachstumsbedingten Gewebs- und Zell-
raumverschiebungen.

Acta Biol. Med. Germ., 1961, 7, 32-44.

- 94 - KUBY S.A., NODA L., LARDY H.A.

Adenosinetriphosphate-creatine transphosphorylase III kinetic
studies.

J. Biol. Chem., 1954, 210, 65-82.

- 95 - LAMARCHE M., ROYER R.

Aspartic Acid salts and the cardiovascular diseases

pp. 104-122, in BAJUSZ E., Electrolytes and Cardiovascular
Diseases, Karger, Basel/N.Y., 1965.

- 96 - LAMARCHE M., ROYER R., BAS M.

Comparaison des activités des aspartates et de l'ester nico-
tinique du diéthylamino éthanol vis à vis des manifestations
de l'hypoxie aiguë.

C.R. Soc. Biol., (Paris), 1962, 156, 2099-2101.

- 97 - LAMARCHE M., TAPIE M., ROYER R.

Activité pharmacodynamique cardiaque des aspartates.
Thérapie, 1962, 17, 935-946.

- 98 - LAMPRECHT W.

Substrate and energy metabolism in heart failure.
pp. 186-199, in MARCHETTI G., TACCARDI B., ed.,
Coronary Circulation and Energetics of the Myocardium,
Karger, Basel/N.Y. 1967 (300 p.).

- 99 - LAMPRECHT W., TRAUTSCHOLD I.

Adenosine-5'-triphosphate, determination with Hexokinase and
glucose-6-phosphate Dehydrogenase, p. 543-551.
in BERGMAYER H.U. Methods of Enzymatic Analysis. Academic
Press, New-York, 1963, (1.064 p.).

- 100 - LANGER G.A.

Ion fluxes in cardiac excitation and Contraction and their
relation to myocardial Contractility.
Physiol. Rev., 1968, 48, 708-757.

- 101 - LEE K.S.

Effect of cardiac glycosides on the sarcoplasmic reticulum
as a possible mechanism of inotropic action.
pp. 519-540, in TANE R.D., KAVALER F., ROBERTS J., Factors
influencing myocardial contractility.
Academic Press, New-York, 1967, (593 p.).

- 102 - LEONARD E., HAJDU S.

Action of electrolytes and drugs on the contractile mechanism
of the cardiac muscle cell. p. 151-197, (342 réf.).
in Handbook of Physiology. Circulation, Vol. I, HAMILTON W.F.,
DOW P., ed., Washington, 1962 (753 p.).

- 103 - LIPMANN F.

Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy.
Advanc. Enzymol., 1941, 1, 99-162.

- 104 - LISTER D., SAIR R.A., WILL J.A., SCHMIDT G.R., CASSENS R.G.
HOEKSTRA W.G., BRICKEY E.J.

Metabolism of striated muscle of stress-susceptible pigs
breathing oxygen or nitrogen.
Am. J. Physiol., 1970, 218, 103-107.

- 105 - LOHMANN K.
Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatinphosphorsäure ;
zugleich ein Beitrag zum chemismus der Muskelkontraktion.
Biochem. Z., 1934, 71, 264-277.
- 106 - LOWRY C.H., PASSONNEAU J.V., HASSELEBERGER F.X., SCHULTZ D.W.
Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the
glycolytic pathway in brain.
J. Biol. Chem., 1964, 239, 18-30.
- 107 - LUNESGAARD E.
Untersuchung über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung.
Biochem. Z., 1930, 217, 162-177.
- 108 - LUNDSGAARD E.
Weitere Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung.
Biochem. Z. 1930, 227, 51-83.
- 109 - MARECHAL G.
Le métabolisme de la phosphorylcréatine et de l'adénosine triphosphate durant la contraction musculaire.
Arscia, Bruxelles, 1964, (184 p.).
- 110 - MARMOR M.F., GORMAN A.L.F.
Membrane potential as the sum of ionic and metabolic components.
Science, 1970, 167, 65-67.
- 111 - MATSUI H., SCHWARTZ A.
Mechanism of cardiac glycoside inhibition of the ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$) dependent ATPase from cardiac tissue.
Biochim. Biophys. Acta, 1968, 151, 655-663.
- 112 - MAYER S.E.
Effect of epinephrine on carbohydrate metabolism in the heart.
pp. 443-455, in TANZ R.D., KAVALER F., ROBERTS J., Factors influencing myocardial contractility, Academic Press, New-York, 1967, (693 p.).

113 - MEDESAN C.

La perfusion des muscles striés, moyen d'investigation de la biochimie musculaire.

Rev. Roum. Biochim., 1966, 3, 363-371.

114^a - MEERSON F.Z.

The myocardium in hyperfunction, hypertrophy and heart failure.

Circulation Res., 1969, 25, II-1-II-8.

114^b - II-55-II-81.

115 - de MELLO C.W.

Metabolism and electrical activity of the heart : action of 2-4-dinitrophenol and ATP.

Am. J. Physiol., 1959, 196, 377-380.

116 - MICHAL G., NAEGLER S., DANFORTH W.H., BALLARD F.B., BING R.J.

Metabolic changes in heart muscle during anoxia.

Am. J. Physiol., 1959, 137, 1147-1151.

117 - MICHEL D., LAMPRECHT W., STEIN Ph., EISENBURG J.

Zur Beeinflussung des Herzmuskelstoffwechsels durch Orthostase.

Verh. Dtsch. Ges. Kreisf-Forsch., 1961, 27, 247-252.

118 - MINELLI R., CASSELLA C.

Influence of load and work on the high energy phosphates content in the myocardium (rat heart-lung preparation).

Pflügers Arch., 1967, 295, 119-126.

119 - MOMMAERTS W.F.

The energetics of contraction in the heart.

pp 70-80 in HATCHER J.D., JENNINGS D.B., ed., Proc. int. Symp. cardiovasc. resp. Effects Hypoxia, Karger, Basel, 1966, (407 p.).

120 - MOMMAERTS W.F.

Energetics of muscular contraction.

Physiol. Rev., 1969, 49, 427-508.

- 121 - MOMMAERTS W.F., SCHILLING M.C.
Interruption of muscular contraction by rapid cooling.
Am. J. Physiol., 1955, 182, 579-584.
- 122 - MOMMAERTS W.F., WALLNER A.
The break-down of adenosine triphosphate in the contraction cycle of the frog sartorius muscle.
J. Physiol., (London), 1967, 193, 343-357.
- 123 - MOORE J.I., COTTEN de V.M.,
Cardiovascular function, oxygen extraction and labile nucleotide content of cardiac muscle during norepinephrine-induced depression of digitalized hypothermic dog heart muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 1966, 152, 488-500.
- 124 - MORGAN H.E., NEELY J.R., BRINEAUX J.P., PARK C.R.
pp. 347-355, Regulation of glucose transport, in CHANCE B., ESTABROOK R.W., WILLIAMSON J.R., Control of energy metabolism Academic Press, New-York, 1965.
- 125 - MORRISON J.F., JAMES E.
The mechanism of the reaction catalysed by Adenosine Triphosphate-Creatine Phosphotransferase.
Biochem. J., 1965, 97, 37-50.
- 126 - MORRISON J.F., WHITE A.
Isotope exchange studies of the reaction catalyzed by ATP : Creatine phosphotransferase.
European J. Biochem., 1967, 3, 145-152.
- 127 - NAYLER W.G., STONE J., CARSON V., McINNES I., MACK V., LOWE T.E.
The effect of beta adrenergic antagonists on Cardiac contractions, myofibrillar ATPase activity, high-energy phosphate stores and lipid-facilitated transport of calcium ions.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1969, 165, 225-233.
- 128 - NEILL W.A., KRASNOW N., LEVINE H.J., GORLIN R.
Myocardial anaerobic metabolism in intact dogs.
Am. J. Physiol., 1963, 204, 427-432.

129 - NOGUES C.

Mesure de la force contractile ventriculaire chez le lapin au moyen de jauges de contraintes.

Thèse de Physiologie Animale (3^e cycle)
Faculté des Sciences ORSAY, 1968.

130 - OLSON R.E.

Physiology of cardiac muscle.

pp. 189-235, in Handbook of Physiology, Circulation, vol. I, HAMILTON W.F., DOW P., ed., Washington, 1962 (758 p.).

131 - OLSON R.E.

Utilization of exogenous and endogenous lipids by the isolated perfused rat heart.

Int. Symp. on the Coronary Circulation and Energetics of the myocardium, Milan, 1966, pp. 162-185, (Karger, Basel, 1967).

132^a - OLSON R.E.

Metabolic interventions in the treatment of infarcting myocardium.

Circulation, 1969, 40, IV-195 - IV-201.

132^b - IV-217 - IV-219.

133 - PEACHEY L.D.

Muscle.

Ann. Rev. Physiol., 1968, 30, 401-440.

134 - POOL P.E.

The chemical energetics of heart muscle.

417-422, in TANZ R.D., KAVALER F., ROBERTS J., ed.,
Factors influencing myocardial contractility
Academic Press, New-York, 1967, (593 p.).

135 - POOL P.E., CHANDLER B.M., SEAGREN S.C., SONNENBLICK E.H.

Mechanochemistry of cardiac muscle. II. the isotonic contraction
Circulation Res., 1968, 22, 465-472.

136 - POOL P.E., CHANDLER B.M., SPANN J.F., SONNENBLICK E.H.,
BRAUNWALD E.

Mechanochemistry of cardiac muscle. IV. Utilization of high-energy phosphates in experimental heart failure in cats.

Circulation Res., 1969, 24, 313-320.

- 137 - POOL P.E., COVELL J.W., CHIDSEY C.A., BRAUNWALD E.
Myocardial high energy phosphate stores in acutely induced hypoxic heart failure.
Circulation Res., 1966, 19, 221-228.
- 138 - POOL P.E., SONNENBLICK E.H.
The mechanochemistry of cardiac muscle. I the isometric contraction.
J. Gen. Physiol., 1967, 50, 951-965.
- 139 - POOL P.E., SPANN J.F., BUCCINO R.A., SONNENBLICK E.H., BRAUNWALD E.
Myocardial high-energy phosphate stores in cardiac hypertrophy and heart failure.
Circulation Res., 1967, 21, 365-373.
- 140 - PORTIUS H.J., REPKE K.R.H.
Eigenschaften und Funktion des $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ -aktivierten, Mg^{++} -abhängigen Adenosintriphosphat Phosphohydrolase-Systems des Herzmuskels.
Acta biol. Med. german., 1967, 19, 907-938.
- 141 - PCUREL J.
La N-Phosphorylcréatine du muscle squelettique humain.
Thèse de Médecine, Nancy, 1968, 213 p., (337 réf.).
- 142 - PRASAD K., MacLEOD D.
Influence of glucose on the transmembrane action potential of guinea-pig papillary muscle : Metabolic inhibitors, ouabain, and calcium chloride, and their interaction with glucose, sympathomimetic amines, and aminophylline.
Circulation Res., 1969, 24, 939-950.
- 143 - PRINZMETAL M., TOYOSHIMA H., EXIEKCI A., NAGAYA T.
Angina pectoris. VI the nature of ST segment elevation and other ECG changes in acute severe myocardial ischemia.
Clin. Sci., 1962, 23, 489-514.
- 144 - QUARTO DI PALO F.M., BERTOLINI A.M., GASTALDI L.
The metabolism of creatinic bodies in senescent animals.
G; Geront., 1960, 3, 85-89.

- 145 - REGEN D.M., DAVIS W.W., MORGAN H.E., PARK C.R.
The regulation of Hexokinase and Phosphofructokinase activity in heart muscle.
J. Biol. Chem., 1964, 239, 43-49
- 146 - REPKE K., PORTIUS H.J.
Über die Identität der Ionenpumpen-ATPase in der Zellmembran des Herzmuskels mit einem Digitalis-Rezeptorenzym.
Experientia, (Basel), 1963, 19, 452-458.
- 147 - RICHARD J.L., ELGRISHI I., DUCIMETIERE P., GELIN J.
L'électrocardiographie d'effort. Résultats préliminaires observés dans deux populations actives.
Bull. de l'I.N.S.E.R.M., 1969, 24, 31-58 (65 réf.).
- 148 - RICHARD J.L., ELGRISHI I., DUCIMETIERE P., GELIN J.
L'électrocardiographie d'effort et l'épidémiologie des cardiopathies ischémiques. Problèmes actuels.
Bull. de l'I.N.S.E.R.M., 1969, 24, 103-138.
- 149 - RICHMAN H.G., WYBORNY L.
Adenine nucleotide degradation in the rabbit heart.
Am. J. Physiol., 1964, 207, 1139-1145.
- 150 - ROBISON G.A., BUTCHER R.W., SUTHERLAND E.W.
Cyclic AMP.
Ann. Rev. Biochem., 1968, 37, 149-174.
- 151 - SAIR R.A., LISTER D., MOODY W.G., CASSENS R.G., HCEKSTRA W.G., BRISKEY E.J.
Action of curare and magnesium on striated muscle of stress-susceptible pigs.
Am. J. Physiol., 1970, 218, 108-114.
- 152 - SCHATZMANN H.J.
Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium-und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran.
Helv. Physiol. Acta., 1953, 11, 346-354.

- 153 - SCHATZMANN H.J.
Zum Wirkungsmechanismus der Herzglykoside.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path., 1969, 263,
12-23, (126 réf.).
- 154 - SCHERLAG D.J., BLFANT R.M., RICCIUTTI M.A., DAMATO A.N.
Dissociation of the effects of digitalis on myocardial potassium flux and contractility.
Am. J. Physiol., 1968, 215, 1238-1291.
- 155 - SCHEUER J.
Myocardial metabolism in cardiac hypoxia.
Amer. J. Cardiol., 1967, 19, 385-392.
- 156 - SCHEUER J., BRACHFELD N.
Coronary insufficiency ; relations between hemodynamic, electrical and biochemical parameters.
Circulation Res., 1966, 18, 173-189.
- 157 - SCHEUER J., STEZOSKI S.W.
Effects of high-energy phosphate depletion and repletion on the dynamics and electrocardiogram of isolated rat hearts.
Circulation Res., 1968, 23, 519-530.
- 158 - SCHEUER J., STEZOSKI S.W.
Discordance between the electrocardiogram and ATP levels in the isolated rat heart.
Amer. J. Med. Sc., 1968, 257, 313-327.
- 159 - SCHUMANN H.
Die Verminderung des Glykogens, des Phosphagens und der Adenylpyrophosphorsäure im Herzmuskel bei Sauerstoffmangel und nach ermüdender Arbeit normaler und trainierter Tiere.
Z. ges.exp. Med., 1939, 106, 59-66.
- 160 - SHANES A.M., BERMAN M.D.
Kinetics of ion movement in the squid giant axon.
J. Gen. Physiol., 1955, 39, 279-300.

161 - SKOU J.C.

The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves.

Biochim. Biophys. Acta, 1957, 23, 394-401.

162 - SONNENBLICK B.H., STAM A.C. Jr.

Cardiac muscle : activation and contraction.

Ann. Rev. Physiol., 1968, 31, 647-674.

163 - STRUMZA M.V., STRUMZA-POUTONNET J.M.

Le mécanisme de la bradycardie anoxique préterminale.

C.R. Soc. Biol., 1968, 156, 1998-2000.

164 - SWYNGHEDAUW B., CORSIN A.

Les effets d'une perfusion hyper ou hypocalcique sur la glycolyse du coeur isolé de lapin.

Arch. internat. Physiol. Bioch., 1969, 77, 181-205.

165 - SWYNGHEDAUW B., CORSIN A., HATT P.Y., SAG A.

Le prélèvement "in situ" du tissu myocardique par congélation instantanée en expérimentation animale.

Path. Biol., 1967, 15, 853-856.

166 + SWYNGHEDAUW B., HATT P.Y.

Métabolisme des glucides dans le myocarde. II - Les variations physiologiques et pathologiques.

La Presse Médicale, 1970, 78, 459-466.

167 - SWYNGHEDAUW B., HATT P.Y., HAYAT J.C., LEBLOND J.B.

L'anoxie myocardique aiguë par inhalation d'azote chez le lapin. Corrélation entre les données biochimiques, hémodynamiques, le potentiel de lésion et les ultra-structures.

Rev. Franç. Etudes Clin. Biol., 1968, 13, 666-675.

168 - SWYNGHEDAUW B., LEBLOND J.B.

L'anoxie aiguë myocardique chez le lapin. Effets des inhibiteurs bêta adrénergiques sur les modifications biochimiques.

Rev. Franç. Etudes Clin. Biol., 1968, 13, 805-808.

169 - TANZ R.D.

Possible relationship between ouabain-induced augmentation and endogenous cardiac catecholamine release.
pp 563-577, in TANZ R.D., KAVALER F., ROBERTS J., ed.,
Factors influencing myocardial contractility.
Academic Press, New-York, 1967, (600 p.).

170 - THOAI N.V., ROCHE J.

Sur la biochimie comparée des phosphagènes et leur répartition chez les animaux.
Biol. Rev., 1964, 39, 214-231.

171 - THORN W.

Metabolitkonzentrationen im Herzmuskel unter normalen, hypoxischen und anoxischen Bedingungen.
Verh. Dtsch. Ges. Kreisl-Forsch., 1961, 27, 76-92.

172 - THORN W., GERCKEN G., HÜRTER P.

Function, substrate supply and metabolite content of rabbit heart perfused in situ.
Am. J. Physiol., 1968, 214, 139-145.

173 - THORN W., HEIMANN J., MÜLDNER B., GERCKEN G.

Beitrag zum Stoffwechsel von Leber, Niere, Herz und Skelettmuskulatur in Asphyxie, Anoxie und bei Hypothermie.
Pfügers Arch. ges. Physiol., 1957/58, 265, 34-54.

174 - VERNANT P.

Etude électrocardiographique de l'anoxie expérimentale et de la réoxygénation.
Thèse Médecine, Paris 1951.

175 - WAHLER B.S., WOLLENBERGER A.

Zur Bestimmung des Orthophosphats neben säure-molybdatlabilen Phosphorsäureverbindungen.
Biochem. Z., 1957/58, 329, 508-520.

176 - WALLON G.

Effet comparé, sur l'activité électrique du myocarde, de la ligature des coronaires et de l'anoxie.
C.R. Soc. Biol., (Paris), 1963, 157, 1216-1221.

- 177 - WEBER A., HERZ R., REISS I.

On the mechanism of the relaxing effect of fragmented sarcoplasmic reticulum.

J. Gen. Physiol., 1963, 46, 679-702.

- 178 - DE WEBER P.

Restoration of a potassium-requiring sodium pump in squid giant axons poisoned with CN and depleted of arginine.

Nature, (London), 1968, 219, 730-731.

- 179 - WEILLER M.

L'association digitale-quinidine. Aspects cliniques et expérimentaux.

Thèse Médecine, Nancy, 1967, 242 p.

- 180 - WEISSLER A.M., KRUGER F.A., BABA N., SCARPELLI C.G., LEIGHTON R.F., GALLIMORE J.K.

Role of anaerobic metabolism in the preservation of functional capacity and structure of anoxic myocardium.

J. Clin. Invest., 1968, 47, 403-416.

- 181 - WEST J.J., NAGY B., GERGELY J.

Free adenosine diphosphate as an intermediary in the phosphorylation by creatine phosphate of adenosine diphosphate bound to actin.

J. Biol. Chem., 1967, 242, 1140-1145.

- 182 - WILHELMY cité in MOORE W.J.

Chimie physique, traduit par ABERDAM H.

Dunod éd. Paris, 1961, (790 p.).

- 183 - WILKIE D.R.

Muscle.

Ann. Rev. Physiol., 1966, 28, 17-38.

184 - WILLIAMSON J.R.

Metabolic effects of epinephrine in the perfused rat heart.

II control steps of glucose and glycogen metabolism.

Molec. Pharmacol., 1966, 2, 206-220.

185 - WILLIAMSON J.R.

Glycolytic control mechanisms. II kinetics of intermediate changes during the aerobic-anaerobic transition in perfused rat heart.

J. Biol. Chem., 1966, 241, 5026-5036.

186 - WILLIAMSON J.R., HERCZEG B.E., COLES H.S., CHEUNG W.Y.

Glycolytic control mechanisms. V kinetics of high energy phosphate intermediate changes during electrical discharge and recovery in the main organ of *Electrophorus electricus*.

J. Biol. Chem., 1967, 242, 5119-5157.

187 - WOLLENBERGER A.

Agents influencing myocardial contraction, cardiac glycosides. 505-518.

in TANZ R.D., KAVALER F., ROBERTS J., ed., Factors influencing myocardial contractility.

Academic Press, London, 1967, (693 p.).

188 - WOLLENBERGER A., KRAUSE E.G.

Activation of α -glucan phosphorylase and related metabolic changes in dog myocardium following arrest of blood flow.

Biochim. Biophys. Acta, 1963, 67, 337-340.

189 - WOLLENBERGER A., KRAUSE E.G., SHAHAB L.

Endogenous catecholamine mobilization and the shift to anaerobic energy production in the acutely ischemic myocardium. pp. 200-219, in MARCHETTI G., TACCARDI B., ed., Coronary Circulation and energetics of the myocardium, Karger, Basel, 1967 (320 p.).

190 - WOLLENBERGER A., KRAUSE E.G., WAHLER B.E.

Über den tatsächlichen Orthophosphat und N-Phosphorylkreatin Gehalt des Säugetierherzens.

Pflügers Arch. ges. Physiol., 1959/60, 270, 413-427.

- 191 - WOLLENBERGER A., RISTAU O., SCHOFFA G.
Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung
grösserer Gewebestücke.
Pflügers Arch. ges. Physiol., 1959/60, 270, 399-412.
- 192 - YOUNG M.
The molecular basis of muscle contraction.
Ann. Rev. Biochem., 1969, 38, 913-950.
- 193 - ZAO Z.Z., YEN M., HERRMANN G.R.
Relation between STsegment elevation and experimental
myocardial oxygen gradient.
Am. J. Physiol., 1959, 196, 207-208.

